

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



CLÁUDIA RAMOS PINHEIRO

AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO BACTERIANA
CORONO-APICAL DE CANAIS RADICULARES
OBTURADOS COM DIFERENTES TIPOS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS

ARARAQUARA

2008

CLÁUDIA RAMOS PINHEIRO

**AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO BACTERIANA
CORONO-APICAL DE CANAIS RADICULARES OBTURADOS COM
DIFERENTES TIPOS DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Mestre em Endodontia

Orientador:

Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

ARARAQUARA

2008

Pinheiro, Cláudia Ramos

Avaliação da infiltração bacteriana corono-apical de canais radiculares obturados com diferentes tipos de cimentos endodônticos / Cláudia Ramos Pinheiro. – Araraquara: [s.n.], 2008.

105 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador : Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

1. Endodontia 2. Infiltração dentária . 3. Cimentos dentários.

I. Título

CLÁUDIA RAMOS PINHEIRO

**AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO BACTERIANA
CORONO-APICAL DE CANAIS RADICULARES OBTURADOS
COM DIFERENTES TIPOS DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Prof.Dr. Idomeo Bonetti Filho

2º Examinador: Prof.Dr. Carlos Benatti Neto

3º Examinador: Prof.Dr. Antônio Carlos Bombana

Araraquara, 24 de março de 2008.

DADOS CURRICULARES

Cláudia Ramos Pinheiro

NASCIMENTO	03.05.1978 - SANTOS/SP
FILIAÇÃO	José Urleton Pinheiro Machado Marli Ramos Pinheiro
1999/2003	Curso de Graduação Universidade Federal de Alfenas – UFAL
2004	Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia/ Molares Associação Brasileira de Odontologia – Bauru/SP
2004/2006	Curso de Especialização em Endodontia – Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais/HRAC (USP) – Bauru/SP
2006/2008	Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de Mestrado na Faculdade de Odontologia de Araraquara/FOAR (UNESP) – Araraquara/SP
Associação	SBPqO

DEDICATÓRIA

A Deus,

Por me abençoar, guiar meu caminho e me permitir chegar até esse momento, realizando mais um grande sonho.

Aos meus pais José e Marli,

Vocês são o meu maior orgulho. Pessoas valorosas, exemplos de caráter, honestidade e fortaleza. Juntos, vencemos obstáculos que muitos julgavam intransponíveis. É impossível expressar toda importância de vocês na minha vida, por isso lhes dedico essa vitória com AMOR e GRATIDÃO.

Ao meu marido Marcus Vinícius,

Razão de tudo na minha vida. Obrigada pelo amor, carinho, companheirismo e confiança que existe entre nós. Agradeço também por entender minha ausência, sonhar os meus sonhos e lutar comigo para concretizá-los. Com você aprendi o verdadeiro sentido da palavra cumplicidade. Essa conquista é nossa!!!

Ao meu irmão **Marcelo**,

Maravilhosos são os desígnios de Deus, por isso agradeço a Ele de tê-lo como irmão. Aproveito a oportunidade para dizer o quanto te amo e o muito que significa para nossa família!!!

A toda minha família tios, tias, primos e primas,

Pelo carinho e amizade compartilhados.

Aos meus sogros **Osmar e Arleida** e aos cunhados **Fred, Leonardo e Fernandinha**, pessoas amáveis que me receberam e me trataram como uma filha e irmã em seu lar. Obrigada pelo respeito e confiança que vocês depositaram em mim.

Esta conquista é toda dedicada a vocês!!!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Professor Dr. Idomeo Bonetti Filho,

Pela orientação e amizade. Mais do que um Mestre, você se tornou um grande amigo. Além do seu amor pela Endodontia e pela Ciência, sua bondade e carisma fazem de você uma pessoa inesquecível. Obrigada por tudo!

Ao Professor Dr. Mário Roberto Leonardo,

Tive o grande privilégio de assistir às suas aulas durante o curso de Mestrado. Sua paixão e dedicação pela docência e pela Ciência o tornaram o grande ícone da nossa Endodontia.

Aos professores da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Prof.Dr. Renato de Toledo Leonardo, Prof.Dr. Mário Tanomaru filho, Prof.Dr. Roberto Miranda Esberard e Prof.Dr. Fábio Luiz Camargo V. Berbert, meu respeito pelo aprendizado, companheirismo e pela contribuição na minha vida profissional.

Ao Professor Dr. Carlos Benatti Neto,

Tive a imensa satisfação de trabalharmos juntos durante o curso e admiro imensamente o pesquisador e pessoa maravilhosa que você é.

Muito Obrigada!

Ao Professor Dr. Antônio Carlos Pizzolito,

Pela oportunidade e conhecimento compartilhados.

Aos meus colegas de Mestrado Frederico, Érica, Fernando, Norberto, Guilherme e Hugo,

Apreendi muito com cada um de vocês. Valeu pelas risadas, conversas, boas horas de laboratório, clínicas e seminários. Sucesso a todos!

A minha querida amiga Adriana Simionatto Guinesi,

Sua amizade foi uma grande dádiva. Juntas, crescemos profissionalmente e pessoalmente. Obrigada pela cumplicidade, lealdade e por todo apoio!

A Maria do Carmo Dória Martins,

Agradeço sua dedicação e companheirismo durante a realização desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, na pessoa da Sra. Diretora Professora Dra. Rosemary Adriana Chiérice Marcantonio e seu Vice-Diretor Professor Dr. José Cláudio Martins Segalla, pela recepção e condições oferecidas para realização deste trabalho.

A todos os Professores desta Faculdade que lecionaram durante o meu curso de Mestrado. Obrigada pelos conhecimentos transmitidos.

A Professora Dra. Juliane Tanomaru,

Por seu imenso conhecimento científico, convivência e boas idéias.

Aos Professores Celso Kenji Nishiyama e Renata Pardini Hussne,

Por terem me ensinado a Especialidade (Endodontia) e a exercê-la com Ética e Responsabilidade.

A todos os funcionários da Endodontia, Creuza, Célia, Sr. Pedro, Marinho, Adriana e Cida, e ao José Antônio (Patologia),

Sem o apoio de vocês, seria impossível a realização desse trabalho.

Às funcionárias da Seção de pós-graduação, Mara, Flávia e Rosângela,
Pela simpatia e profissionalismo para com todos os pós-graduandos.

Aos funcionários da Biblioteca pelo apoio constante, em especial à Ceres,
pelas correções e revisões deste trabalho.

As minhas amigas Rafaela Rangel Rosa e Camila Eugênia Baccan,
A amizade de vocês é parte substancial do sucesso trilhado ao longo da
minha vida.

A família Alfenense (Sra. Francisca e Sr. Olívio),
Cada sonho realizado, lembro de vocês com amor e saudades.

A CAPES, pelo auxílio financeiro para a realização deste trabalho.

A todos aqueles que participaram direta ou indiretamente da minha
formação profissional e humana, que torceram por mim em ações ou
orações. Minha gratidão eterna!

4.3.2.1	Cimento Endodôntico Epiphany.....	45
4.3.2.2	Cimento endodôntico experimental à base do Polímero da mamona (Polifil).....	46
4.3.2.3	Cimentos endodônticos Acroseal e AH Plus.....	47
4.3.2.4	Cimento endodôntico Endofill.....	48
4.4	Armazenagem das amostras e corte da obturação.....	49
4.5	Avaliação Microbiológica.....	49
4.5.1	Impermeabilização dos remanescentes radiculares.....	49
4.5.2	Montagem dos remanescentes radiculares em eppendorfs e esterilização dos conjuntos.....	50
4.5.3	Preparo dos frascos de vidro contendo meio “Brain Heart infusion” (BHI).....	51
4.5.4	Montagem final do dispositivo para o teste de infiltração.....	52
4.5.5	Teste de Infiltração coronária.....	53
4.5.6	Teste de viabilidade das bactérias.....	55
4.6	Análise Estatística.....	55
5	Resultado.....	56

5.1	Avaliação Microbiológica.....	56
6	Discussão.....	62
6.1	Discussão da Metodologia.....	62
6.2	Discussão do Resultado.....	72
6.2.1	Avaliação Microbiológica.....	72
6.2.1.1	Grupos controles positivo e negativo.....	72
6.2.1.2	Amostra descartada durante o experimento.....	72
6.2.1.3	Grupos experimentais.....	73
6.2.1.3.1	Avaliação dos cimentos endodônticos testados.....	75
7	Conclusão.....	89
8	Referências.....	90
Anexos	104

Pinheiro CR. Avaliação da infiltração bacteriana corono-apical de canais radiculares obturados com diferentes tipos de cimentos endodônticos [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Resumo

Avaliamos a infiltração coroa-ápice da bactéria *Enterococcus faecalis* em incisivos centrais bovinos instrumentados e obturados com os cimentos endodônticos AH Plus, Endofill, Epiphany, Acroseal e o cimento experimental à base do Polímero da mamona (Polifil). Foi confeccionado um dispositivo a ser adaptado na porção inferior de tubos de centrífuga, Eppendorf. As raízes, previamente obturadas, foram inseridas nesse dispositivo até que 5mm se projetasse para fora do tubo plástico. A junção entre o tubo e a raiz foi selada com araldite, assim como a porção da raiz, externa ao recipiente, excluindo-se 1 mm ao redor do forame apical. O dispositivo Eppendorf e raiz obturada foram fixados em frasco tipo penicilina, contendo caldo “Brain heart infusion”. Com auxílio de uma pipeta, 1mL da bactéria foi transferido ao caldo B.H.I. e 400 µL de uma cultura recente foram transferidos para a porção superior do tubo. Durante 64 dias, a infiltração bacteriana era detectada através da turvação do caldo. Os resultados foram submetidos à análise estatística. Foi utilizado o método não-paramétrico de Kaplan-Meier e o teste de Kruskal-Wallis, complementado por comparações múltiplas pelo teste de Dunn. Adotou-se o nível de significância de 5%. Os cimentos AH Plus e Endofill apresentaram resistência à infiltração bacteriana significativamente menor do que o Polifil, mas estatisticamente equivalentes entre si. Os cimentos Epiphany e Acroseal deram resultados intermediários e equivalentes, mas sem diferença estatisticamente significativa em relação aos outros cimentos.

Palavras-chave: Endodontia; infiltração dentária; cimentos dentários.

Abstract

Pinheiro CR. Bacterial leakage evaluation of root canals filled with different endodontic sealers [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Abstract

This study compared some of the endodontic sealers sealing ability (AH Plus, Epiphany, Acroseal, Endofill and Polifil (a castor oil-based experimental sealer) using the active lateral condensation technique, through a bacterial test, during 64 days. One hundred bovine incisors were selected and divided into five experimental groups and two control groups (negative and positive ones). The teeth were cleaned and shaped by the step-back technique, then, they were filled with the endodontic sealers and stored in (100%) wet environment. The roots were impermeabilized with araldite glue, adapted into an eppendorf microtube and sterilized by ethylen oxide gas. The root/ eppendorf microtube was added to penicillin flasks containing 6mL of BHI broth kept at 37° C for 4 days to confirm sterilization. After this period, 400µL of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 were inserted at the upper portion of the eppendorf microtube. Daily leakage was evaluated through the broth turbidity. The results were submitted to the statistical analysis (Kaplan-Meier method as well as Kruskal-Wallis' and Dunn's tests). AH Plus and Endofill sealers were statistically equivalent concerning the sealing property, showing less resistance to the bacterial leakage than Polifil, while Acroseal and Epiphany had similar and intermediate behavior, but without numerical significance when compared to the other sealers.

Key-words: Endodontics; dental leakage; dental sealers.

1 Introdução

A Endodontia, baseada em dados científicos, tornou-se uma especialidade mais segura, sendo realizada tecnicamente como uma sucessão de fases interdependentes, que se situam em um mesmo nível de importância.

Sendo assim, a obturação dos canais radiculares deve ser muito bem realizada, pelo fato de substituir a polpa radicular e de certa forma, refletir a conduta do profissional durante todo o tratamento^{12, 16}.

A obturação deve ser realizada no limite adequado, com materiais com boas propriedades físico-químicas que promovam um selamento completo e tridimensional do sistema de canais radiculares e que sejam biocompatíveis aos tecidos apicais e periapicais^{12, 45, 57}.

A obtenção de um selamento eficaz é de extrema importância, pois evitará a infiltração entre os materiais obturadores e as paredes do canal radicular^{16, 36}. Os cimentos endodônticos devem possuir ação antimicrobiana e serem biocompatíveis aos tecidos periradiculares, além disso, devem possuir um bom tempo de trabalho, bom escoamento, boa viscosidade e aderência^{10, 44, 75, 89}.

Uma obturação bem realizada nos canais radiculares está diretamente relacionada às técnicas e aos materiais utilizados⁷⁷.

O Endofill é um cimento à base de óxido de zinco e eugenol, que apresenta propriedades físico-químicas desejáveis, mas quando extravasado acidentalmente, provoca uma resposta inflamatória nos tecidos periapicais^{6, 44}.

O AH Plus é um cimento endodôntico desenvolvido a partir da química das resinas tipo epóxi-aminas com propriedades físico-químicas satisfatórias como estabilidade dimensional, radiopacidade, constância de volume, baixa solubilidade, baixa concentração, capacidade seladora, resistência e adequado escoamento³.

Trabalhos recentes têm demonstrado que os cimentos resinosos têm ganhado popularidade pelo fato dos sistemas adesivos estarem mais resistentes à penetração bacteriana³⁴.

O sistema obturador denominado Epiphany/ Resilon, consiste em um material obturador em forma de cone, feito de polímeros de poliéster (ResilonTM). Sua fórmula possui características similares à guta-percha, sendo plastificado em temperaturas mais baixas que a deste material. O ResilonTM apresenta-se comercialmente sob a forma de cones principais em conicidades de .02, .04 e .06 e de cones auxiliares em diferentes diâmetros. Este sistema também apresenta um primer composto; além de um cimento resinoso de presa dual disposto em uma seringa, onde ocorre a mistura da base e do catalisador. A obturação pode ser realizada pela técnica de condensação lateral, técnica do cone único ou pela técnica de termoplastificação. É indicada a fotopolimerização na superfície coronária por 40 segundos após a completa obturação do canal radicular⁴⁶.

Em 1984, o Professor Doutor Gilberto O. Chierice, do grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros da Universidade de São Paulo-São Carlos, desenvolveu uma poliuretana vegetal extraída de *Ricinus communis* (óleo de mamona), a qual vem mostrando resultados promissores na Medicina

(Ortopedia e Cirurgia Plástica) com possibilidade de aplicação na Odontologia, por apresentar biocompatibilidade, osseointegração, por ser atóxico, germicida e bactericida^{18, 29, 62, 78}. O Polifil (cimento experimental à base do polímero da mamona) apresenta-se na forma de 2 ampolas de vidro. Ao polímero é incorporado óxido de zinco e carbonato de cálcio. O pré-polímero tem a função de proporcionar a presa do material.

O Acroseal é um cimento endodôntico à base de hidróxido de cálcio, biocompatível, segundo os achados de Gambarani et al.³¹ (2003), a partir de um estudo feito in vitro avaliando a citotoxicidade desse material em culturas celulares, além de ter uma espessura adequada quando manipulado à temperatura ambiente, de acordo com a pesquisa realizada por Testarelli et al.⁸⁸ (2003), entretanto, novos estudos devem ser feitos para que se possa avaliar a sua resistência à infiltração bacteriana.

A maioria das técnicas, desde que corretamente empregadas, satisfaz o requisito de uma boa obturação e contribuem para o sucesso do tratamento¹⁵.

Sendo assim, a condensação lateral é a técnica de obturação mais utilizada em Endodontia², por apresentar como vantagens a facilidade de execução e melhor controle do limite da obturação³⁹.

Durante muitos anos, o fracasso do tratamento endodôntico era atribuído à infiltração apical, no entanto, mais recentemente, uma maior atenção tem sido dada à infiltração coronária dos canais radiculares³⁶. Quando não ocorre um adequado selamento e a obturação é exposta, ocorre à infiltração de fluidos e

microrganismos na interface entre o material obturador e as paredes do canal ou na própria obturação, entre os cones de guta percha e o cimento obturador, em áreas onde o cimento é dissolvido pela saliva^{16,80}.

O selamento coronário dos canais radiculares pode ser avaliado de diferentes formas, sendo que, a penetração bacteriana através do material obturador tem sido muito utilizada^{16, 71}, por resultar em informações semelhantes às obtidas com a clínica cotidiana⁸⁹.

O *Enterococcus faecalis* é um microrganismo usado em inúmeros trabalhos de infiltração coronária, por estar freqüentemente associado aos dentes, cujo tratamento endodôntico fracassou⁷⁷. Embora essa bactéria possua vários fatores de virulência, sua habilidade em causar infecções periapicais se deve à sua capacidade de sobreviver durante a terapia e persistir posteriormente no canal radicular e nos túbulos dentinários^{16, 73}.

Portanto, o principal objetivo desse estudo foi avaliar in vitro, a infiltração bacteriana coroa-ápice do *Enterococcus faecalis* em canais radiculares obturados com diferentes tipos de cimentos endodônticos utilizando como técnica de obturação a condensação lateral ativa.

2 Revisão da Literatura

O maior objetivo dos endodontistas é promover uma obturação completa e tridimensional do sistema de canais radiculares (Schilder⁷² 2006), com um material que promova um selamento hermético e seja biocompatível aos tecidos periapicais (Jacobson et al.³⁸ 2002).

Os estudos de Bowman com a guta-percha em 1987 tornaram-na o material mais utilizado e aceito para a obturação dos canais radiculares (Leonardo⁴⁵ 2005) devido às suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Figueiredo, Estrela³⁰ 1999), permitindo o seu uso nas diferentes técnicas de obturação.

A guta-percha tem sido empregada na obturação devido à sua biocompatibilidade, estabilidade dimensional, adaptação às paredes do canal radicular e facilidade de inserção. Além dessas vantagens, não promove alteração na coloração do dente e pode ser amolecida por solventes ou pelo calor (Brosco¹⁶ 2006, Figueiredo, Estrela³⁰ 1999, Jurcak³⁹ 1992).

Para a obturação dos canais radiculares, a guta-percha normalmente é associada a um cimento obturador, que tem a função de preencher as irregularidades do canal radicular e o espaço entre os cones de guta-percha (Soares, Goldberg⁸² 2001).

A obturação é a fase final do tratamento endodôntico e apresenta grande importância, já que aproximadamente 60% dos insucessos do tratamento

endodôntico são atribuídos à obturação insatisfatória dos canais radiculares (Brosco¹⁶ 2006, Davalou et al.²⁷ 1999).

Apesar de existirem muitas técnicas para a obturação, todas elas têm, como objetivo básico, promover um selamento hermético do sistema de canais radiculares (Leonardo⁴⁵ 2005).

Com o intuito de se estudar os diferentes aspectos que podem influenciar na qualidade da obturação, diversos trabalhos têm sido realizados. Dentre eles, há aqueles que avaliam a capacidade de selamento (Bonetti Filho et al.¹² 2000) e preenchimento do sistema de canais radiculares (Mazotti⁵² 2001), promovido pelas diferentes técnicas.

2.1 Técnica da condensação lateral

Callahan¹⁹, em 1914, introduziu a técnica de condensação lateral, que a partir de então, tem sido a técnica de obturação mais utilizada na Endodontia (Figueiredo, Estrela³⁰ 1999). Dentre as principais vantagens, destacam-se a facilidade de execução, preparo conservador do canal radicular, simplicidade, eficiência e capacidade em controlar a extensão da obturação (Jurcak³⁹ 1992).

Para a realização dessa técnica, utiliza-se um cone de guta-percha principal e vários cones de guta-percha secundários, interligados por um cimento endodôntico específico para essa finalidade (Bonetti Filho et al.¹² 2000).

Alguns autores defendem que o cimento deve ser aplicado nas paredes do canal radicular antes da introdução do cone principal (técnica clássica) (Soares,

Goldberg⁸² 2001), porém, isso provoca extravasamento com frequência, reduzindo a porcentagem de sucesso do tratamento endodôntico. Outros autores (Holland³⁵ 2005) recomendam 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 da guta-percha.

Pode-se realizar a técnica de condensação lateral de forma ativa, quando são usados espaçadores previamente à introdução dos cones secundários de guta-percha, ou de forma passiva quando não são utilizados espaçadores.

Os espaçadores são instrumentos que apresentam a parte ativa cônica e a extremidade pontiaguda e podem ser fabricados em aço inoxidável ou em níquel-titânio (Cohen, Burns²⁵ 2000, Soares, Goldberg⁸² 2001). Esses instrumentos são encontrados em diferentes conicidades e têm a função de abrir espaços para a colocação de cones secundários, lateralmente ao cone principal (Bonetti Filho et al.¹² 2000, Cohen, Burns²⁵ 2000, Soares, Goldberg⁸² 2001).

2.2 Cimentos Endodônticos

Para que se faça o vedamento dos canais radiculares é de grande importância escolher um cimento que apresente certas propriedades esperadas, como estabeleceu Fisher em 1927 e foi complementado por inúmeros autores (Berbert et al.¹⁰ 1980, Leal et al.⁴⁴ 1988, Sengun, Hasan⁷⁵ 2005, Timpawat et al.⁸⁹ 2001). Dentre boas propriedades biológicas: apresentar boa tolerância tecidual, ser reabsorvido no periápice, em casos de extravasamentos acidentais, estimular ou

permitir a deposição de tecido mineralizado no nível do ápice e ter ação antimicrobiana. Dentre as propriedades físico-químicas: ser de fácil remoção, ser plástico no momento da inserção, tornando-se sólido posteriormente, possuir um bom tempo de trabalho, possuir bom escoamento, possuir boa viscosidade e aderência, não ser solubilizado dentro do canal radicular, ser radiopaco, não manchar as estruturas dentais, ser passível de esterilização, ser de fácil remoção e promover um bom selamento.

O AH Plus é um cimento endodôntico desenvolvido a partir da química das resinas tipo epóxi-aminas com boas propriedades físico-químicas como estabilidade dimensional, radiopacidade, constância de volume, baixa solubilidade, baixa concentração, capacidade seladora, resistência e adequado escoamento (Al-Khatat et al.³ 1995).

Além dessas propriedades, esse cimento possui boa adesividade às paredes do canal radicular, segundo um estudo in vitro, feito por Wu et al.⁹⁷, em 1997, a partir de um modelo de transporte fluido para a avaliação da infiltração em 100 caninos humanos previamente obturados. Ao comparar esse cimento com o Apexit, à base de hidróxido de cálcio e com o Ketac-Endo, à base de ionômero de vidro, os autores constataram que ele apresentou o melhor selamento marginal.

Camps, Pashley²¹ (2003) compararam a capacidade seladora dos cimentos Kerr Pulp Canal Sealer, Sealapex, AH Plus e Ketac-Endo empregando 3 metodologias diferentes de análise de infiltração (infiltração do corante azul de metileno, a filtragem de fluidos e um método pelo qual as raízes são dissolvidas

em ácido nítrico para a remoção do corante, antes de ler a absorbância da solução). O Sealapex apresentou os maiores níveis de infiltração em relação aos outros cimentos estudados em 2 metodologias de análise (filtragem de fluidos e remoção do corante). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os cimentos AH Plus, Ketac-Endo e Kerr Pulp Canal Sealer, uma vez que todos apresentaram resultados satisfatórios em relação à capacidade seladora em qualquer uma das 3 metodologias aplicadas.

Carvalho²² (2004) avaliou o selamento apical proporcionado pelos cimentos AH Plus e EndoREZ após diferentes tratamentos da dentina radicular: com EDTA-T e lasers de Nd:YAG e de Diodo. Os resultados demonstraram existirem diferenças no selamento apical na dependência do tratamento dado às paredes e que o cimento EndoREZ apresentou maiores níveis de infiltração do que o AH Plus quando as paredes dentinárias foram tratadas com laser.

Sevimay, Kalayci⁷⁶ (2005) propuseram avaliar *in vitro* a capacidade de selamento apical e o grau de adaptação as paredes dentinárias de 2 cimentos endodônticos resinosos, AH Plus e EndoREZ. Para estas finalidades, empregaram-se os testes de infiltração linear por corante (azul de metileno a 2% durante 7 dias) e avaliação microscópica por varredura (S.E.M.), respectivamente. Os resultados do teste de infiltração por corante demonstraram, após 7 dias, que o cimento AH Plus apresentou em média infiltração de 2.87 ± 0.43 mm, enquanto o cimento EndoREZ apresentou média de 4.54 ± 0.36 mm. A diferença entre as médias de penetração de corante foram estatisticamente significantes ($p < 0.01$). A avaliação por microscopia de varredura indicou que ambos os materiais

apresentaram satisfatória adaptação e penetração nos terços cervical e médio. No terço apical, o cimento AH Plus apresentou melhor adaptação à dentina quando comparado ao EndoREZ. Estes autores concluíram que o cimento AH Plus tem melhor capacidade de promover o selamento apical e melhor adaptação à dentina comparado ao cimento EndoREZ.

Da Silva Neto et al.²⁶ (2007) realizaram um estudo, com objetivo de mensurar a infiltração de 4 cimentos endodônticos resinosos. Quatro grupos de 60 pré-molares inferiores uniradiculares foram instrumentados com limas rotatórias GT pela técnica coroa-ápice e obturados pela técnica do cone único com os cimentos AH 26, AH Plus, EndoREZ e um cimento experimental resinoso à base de hidróxido de cálcio, MBP. A infiltração foi avaliada através do método de filtração de fluido após 15, 30 e 60 dias. Os resultados mostraram que os canais radiculares obturados com AH Plus e com o cimento MBP apresentaram os menores valores de infiltração aos 15 dias. Aos 30 dias, o cimento AH 26 apresentou maior infiltração com relação aos outros cimentos. O AH Plus e o cimento MBP apresentaram os menores valores de infiltração aos 60 dias, com diferença estatisticamente significante comparados ao cimento EndoREZ.

O Endofill é um cimento à base de óxido de zinco e eugenol, que apresenta propriedade físico-químicas desejáveis, mas quando extravasado acidentalmente, provoca uma resposta inflamatória nos tecidos periapicais (Barbosa et al.⁶ 1993, Leal et al.⁴⁴ 1988).

Trevizan et al.⁹¹ (2003) utilizando o corante Rodamina B a 0,21% e 44 pré-molares de humanos extraídos, verificaram a capacidade seladora apical dos cimentos óxido de zinco e eugenol, Endofill, AH Plus e Sealer 26. Após a impermeabilização da superfície externa radicular com araldite, as amostras foram imersas na solução corante por 48 horas. A análise foi feita após a secção longitudinal das raízes. Os resultados demonstraram os mesmos níveis de infiltração para os cimentos Sealer 26 e AH Plus e maiores níveis para os cimentos Endofill e óxido de zinco e eugenol.

Com intuito de avaliar a capacidade seladora apical e coronária dos cimentos AH Plus, EndoREZ, Endofill e Rely – X- Unicem, Roggendorf et al.⁶⁸ (2004) realizaram este estudo, onde foram utilizados 30 dentes por grupo, instrumentados com limas de conicidade 0,04 mm/mm até o número 45. Os dentes foram impermeabilizados e submetidos ao teste de infiltração empregando-se corante azul de metileno a 5%. Os resultados demonstraram que os cimentos AH Plus e Endofill apresentaram os menores índices de infiltração, seguidos do Rely – X. Os autores verificaram que o cimento EndoREZ apresentou o maior grau de penetração pelo corante.

Em 1984, o Professor Doutor Gilberto O. Chierice, do grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros da Universidade de São Paulo-São Carlos, desenvolveu uma poliuretana vegetal extraída de *Ricinus communis* (óleo de mamona), a qual vem mostrando resultados promissores na Medicina (Ortopedia e Cirurgia Plástica) com possibilidade de aplicação na Odontologia, por apresentar biocompatibilidade, osseointegração, por ser atóxico, germicida e

bactericida (Calixto¹⁸ 2001, Ferreira et al.²⁹ 2002, Puricelli et al.⁶² 1999, Silva et al.⁷⁸ 1997).

Souza⁸³ (2004) comparou os níveis de infiltração apical determinados pelos corantes azul de metileno a 2% e Rodamina B a 2%, em canais radiculares obturados com cimentos endodônticos de diferentes composições químicas. Foi também determinada a capacidade seladora apical dos cimentos Endofill, Sealer 26, AH Plus, Sealapex, EndoREZ e um cimento experimental à base do polímero de mamona (Polifil) em cada solução corante. O autor verificou que os níveis de infiltração determinados pelas soluções corantes dependem do tipo de cimento avaliado. Nesse estudo, a solução de azul de metileno a 2% determinou nos cimentos Endofill, Sealer 26 e Sealapex menores níveis de infiltração que os determinados pela Rodamina B nos mesmos cimentos, sugerindo uma incapacidade da solução de azul de metileno a 2% em revelar a totalidade da falha da obturação realizada com estas substâncias. Os demais cimentos não apresentaram diferenças significativas nos níveis de infiltração apical determinados por ambas as soluções corantes. Em relação à capacidade seladora apical, o cimento EndoREZ apresentou os maiores níveis de infiltração em ambas soluções. Os cimentos Endofill, Sealer 26, AH Plus e Sealapex apresentaram resultados estatisticamente semelhantes quando usado o corante Rodamina B e constituíram um grupo intermediário. O cimento Polifil apresentou os melhores resultados em relação à capacidade seladora apical determinada pelo corante Rodamina B a 2%.

O Acroseal é um cimento endodôntico à base de hidróxido de cálcio, biocompatível, segundo os achados de Gambarani et al.³¹ (2003), a partir de um estudo feito *in vitro* avaliando a citotoxicidade desse material em culturas celulares, além de ter uma espessura adequada quando manipulado à temperatura ambiente, de acordo com a pesquisa realizada por Testarelli et al.⁸⁸ (2003), entretanto, novos estudos devem ser feitos para que se possa avaliar a sua resistência à infiltração bacteriana.

Trabalhos recentes têm demonstrado que os cimentos resinosos têm ganhado popularidade pelo fato dos sistemas adesivos estarem mais resistentes à penetração bacteriana (Hilton³⁴ 2002).

O sistema obturador denominado Epiphany/ Resilon (Pentron Clinical Technologies), consiste em um material obturador em forma de cone, feito de polímeros de poliéster (ResilonTM). Sua fórmula contém vidro bioativo e obturadores radiopacos em uma matriz resinosa maleável, apresentando características similares à guta-percha, sendo plastificado em temperaturas mais baixas que a deste material. O ResilonTM apresenta-se comercialmente sob a forma de cones principais com a padronização ISO em conicidades de .02, .04 e .06 e de cones auxiliares em diferentes diâmetros. Este sistema também apresenta um primer composto de um monômero (HEMA), de água e de um iniciador de polimerização; além de um cimento resinoso de presa dual disposto em uma seringa, onde ocorre a mistura da base e do catalisador. A obturação pode ser realizada pela técnica de condensação lateral, técnica do cone único ou pela técnica de termoplastificação. É indicada a fotopolimerização na superfície

coronária por 40 segundos após a completa obturação do canal radicular (Lima⁴⁶ 2006).

Shipper et al.⁷⁷ (2004) avaliaram a resistência à penetração bacteriana em um cimento resinoso (Epiphany). Foram inoculados *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis* através da guta-percha e dos cones Resilon usando 2 técnicas de obturação, durante um período de 30 dias. Foram utilizados um total de 156 dentes humanos unirradiculares cujas coroas foram removidas e as raízes instrumentadas até a lima k nº 40 ou 50 no comprimento de 16 mm. Essas raízes foram então divididas aleatoriamente em 8 grupos de 15 espécimes cada e 3 grupos controle de 12 raízes cada. As raízes dos grupos experimentais foram obturadas pela técnica de condensação vertical e lateral com guta-percha e cimento AH 26 (Grupos I e II), guta-percha e cimento Epiphany (Grupos III e IV) e Resilon e cimento Epiphany (Grupos V e VI). Os controles positivos foram obturados com Resilon e guta-percha sem cimento, enquanto que os controles negativos foram apenas impermeabilizados e nenhuma substância obturadora foi empregada. Os resultados mostraram que houve menor infiltração nos grupos obturados com Resilon do que aqueles obturados com guta-percha, entretanto, a maior infiltração ocorreu nos espécimes cujo cimento endodôntico utilizado foi o AH 26.

O selamento apical promovido pelo cimento resinoso Epiphany utilizado juntamente com os cones Resilon foi comparado ao do cimento endodôntico AH Plus usado com os cones de guta-percha, em um estudo in vitro, realizado por Tay et al.⁸⁷ (2005). Vinte e quatro dentes humanos unirradiculares

extraídos foram instrumentados com limas rotatórias de níquel-titânio Profile. Após a instrumentação, os canais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos de 10 dentes cada, sendo os espécimes do 1º grupo obturados com Resilon/Epiphany e os do 2º grupo com cone de guta-percha e cimento endodôntico AH Plus. Os resultados foram obtidos a partir da análise da infiltração realizada com o auxílio de um microscópio eletrônico de transmissão. Os autores verificaram a presença de espaços vazios ao longo da interface dentina/cimento de ambos os grupos, levando-os a concluir que nenhum dos materiais testados promoveu um selamento apical completo.

Maltezos et al.⁴⁹ (2006) realizaram um experimento in vitro comparando a capacidade seladora do sistema obturador Resilon/Epiphany, do MTA Pro Root e do Super-EBA. Para esse estudo, foram utilizados 55 dentes humanos, os quais foram instrumentados e posteriormente, tiveram seus ápices removidos. As retro-cavidades foram preparadas com ultra-som e seladas com os materiais testados. A bactéria *Streptococcus salivarius* foi inoculada e introduzida no sentido coroa-ápice e os 4 mm apicais foram submersos em meio de cultura BHI (Brain heart infusion). A infiltração era detectada através da turvação do meio. Os autores concluíram que houve menor infiltração bacteriana nos canais obturados com o sistema Resilon/Epiphany e com o MTA, não havendo diferença estatística significativa entre ambos.

Baumgartner et al.⁹ (2007) avaliaram a infiltração da bactéria *Enterococcus faecalis* através de pré-molares inferiores humanos obturados ou com cone de guta-percha e cimento endodôntico AH Plus ou com cone Resilon e

cimento Epiphany, utilizando a técnica de condensação para a obturação dos canais. A avaliação da infiltração bacteriana foi realizada diariamente por 50 dias. Os resultados mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, nas condições ensaiadas. Os autores concluíram que não há vantagem aparente em se usar o sistema Epiphany/Resilon em relação à guta-percha/AH Plus.

2.3 Infiltração coronária

A literatura endodôntica atual nos mostra que não apenas o selamento apical é importante para o sucesso da obturação, mas muitos autores (Chailertvanitkul et al.²³ 1997, Siqueira Júnior et al.⁷⁹ 1999) relatam que um selamento coronário satisfatório é de fundamental importância para o sucesso da terapia de canais radiculares.

Quando há infiltração coronária, ocorre a invasão de bactérias e seus subprodutos para o canal radicular, acometendo os tecidos periapicais e originando processos inflamatórios com posterior destruição óssea (Chailertvanitkul et al.²³ 1997).

Somente quando realizadas de maneira adequada, a obturação e a restauração coronária, impedem que as bactérias provenientes do meio bucal penetrem no sistema de canais radiculares e atinjam os tecidos periapicais, prevenindo, dessa forma, o fracasso do tratamento endodôntico (Siqueira Júnior et al.⁸⁰ 2000) e, conseqüentemente, o retratamento do canal e até mesmo a realização de cirurgias periapicais (Barrieshi et al.⁷ 1997).

Alguns autores acreditam ser de maior importância a qualidade da restauração, enquanto outros relatam que ambas apresentam o mesmo grau de significância.

Em 1995, Ray, Trope⁶⁴ verificaram a influência da qualidade da obturação do canal radicular e da restauração coronária na presença de lesão periapical. Para isso, avaliaram radiograficamente 1010 dentes que tinham sido submetidos ao tratamento endodôntico e classificaram os tratamentos endodônticos, bem como as restaurações coronárias como bons ou ruins. Do total de dentes avaliados, 39% possuíam lesão periapical. Os dentes que apresentavam restauração coronária e terapia endodôntica bem realizados apresentavam um índice de sucesso de 18%. Os dentes que apresentavam restauração coronária adequada e tratamento endodôntico inadequado apresentavam um índice de sucesso de 67,6%, enquanto que os dentes que apresentavam restauração coronária inadequada e tratamento endodôntico adequado apresentavam um índice de sucesso de 44%. Os autores concluíram que a qualidade da restauração coronária foi mais importante que a qualidade do tratamento endodôntico para manter a saúde do periodonto apical.

Tronstad et al.⁹² (2000) repetiram o trabalho realizado por Ray, Trope⁶⁴. Do total de dentes avaliados, 32,6% possuíam lesão periapical. Os dentes que apresentavam restauração coronária e tratamento endodôntico adequados apresentaram um índice de sucesso de 81%, enquanto os que apresentavam restauração coronária e tratamento endodôntico inadequados apresentavam um índice de sucesso de 57%. Os dentes que apresentavam restauração coronária

adequada e tratamento endodôntico adequado apresentavam um índice de sucesso de 71%. Os autores concluíram que a qualidade da terapia endodôntica foi mais importante que a qualidade da restauração coronária na saúde do periodonto apical. Os autores não souberam explicar o porquê de terem encontrado resultados diferentes do trabalho de Ray, Trope⁶⁴, apesar das metodologias serem similares.

Em 2002, Hommez et al.³⁶ verificaram a influência da qualidade da obturação do canal radicular e da qualidade da restauração coronária na presença de lesão periapical. Para isso, utilizaram 745 dentes que tinham sido submetidos ao tratamento endodôntico. Para avaliação da qualidade da obturação foram considerados o limite da obturação e a homogeneidade do material obturador, enquanto que, a qualidade da restauração foi avaliada clínica e radiograficamente. Do total de dentes avaliados, 245 (32,5%) possuíam lesão periapical. Quanto à qualidade clínica da restauração, as lesões periapicais estavam presentes em 31% das restaurações satisfatórias e em 37% das insatisfatórias, não havendo diferença estatisticamente significativa entre elas. Porém, quando a qualidade da restauração foi analisada radiograficamente, as lesões periapicais estavam presentes em 23% das restaurações satisfatórias e 37% das insatisfatórias, com diferença estatisticamente significativa. Os dentes obturados com amálgama apresentaram uma menor incidência de lesões periapicais que aqueles restaurados com resinas e os dentes que possuíam uma base sob a restauração também apresentaram menor índice de lesões. Quanto à qualidade do tratamento endodôntico, os canais radiculares que apresentavam obturação no limite adequado apresentaram menor número de lesões periapicais com relação aqueles com limite inadequado e os

canais radiculares com obturação mais homogênea menor número de lesões periapicais que aqueles com falhas na obturação, com diferença estatisticamente significativa. Os autores demonstraram que a confecção de restaurações adequadas, bem como a realização de tratamentos endodônticos e satisfatórios são importantes para prevenir a ocorrência de lesões periapicais, enfatizando que ambos os fatores apresentam o mesmo grau de importância.

2.3.1 Infiltração com corante

Os corantes azul de metileno (Sauáia et al.⁷⁰ 2006) e a tinta nanquim (McRobert, Lumley⁵⁴ 1997, Ravanshad, Torabinejad⁶³ 1992) são os mais utilizados quando a infiltração coronária dos canais radiculares é avaliada pelo emprego de corantes.

Quando a avaliação da infiltração coronária é feita com corante, o dente é imerso no corante, após a obturação do canal radicular, por um período pré-estabelecido e seccionado no sentido longitudinal (Wu et al.⁹⁹ 2004). A infiltração é determinada, com o auxílio de um microscópio, através da marcação do corante na interface entre a dentina e a obturação do canal (Valera et al.⁹³ 1994).

Outros trabalhos (McRobert, Lumley⁵⁴ 1997, Ravanshad, Torabinejad⁶³ 1992) utilizam outra metodologia que torna o dente transparente (diafanização) preservando a estrutura dentária e possibilitando a visualização tridimensional da obturação e da infiltração do corante.

Valera et al.⁹³ (1994), pesquisaram a infiltração coronária de canais radiculares obturados. Cento e oito caninos humanos extraídos foram instrumentados, impermeabilizados na superfície externa das raízes e tiveram seus canais radiculares obturados pela técnica da condensação lateral, utilizando-se o cimento Sealapex. Em seguida foram divididos em diferentes grupos, de acordo com o nível de corte da obturação (terços médio ou apical), momento do corte da obturação (imediate ou após 1 semana) e armazenamento ou não em saliva artificial por 7 dias, antes de serem inseridos no corante azul de metileno a 2%. A infiltração do corante foi analisada com o auxílio de um microscópio de luz invertida. Os resultados demonstraram que as obturações cortadas em nível apical apresentaram menor infiltração coronária que as cortadas no terço médio. Não houve diferença estatisticamente significativa na infiltração coronária entre os dentes que tiveram o corte imediate da obturação ou após 1 semana. O armazenamento em saliva previamente à imersão dos dentes no corante aumentou significativamente a infiltração coronária.

Oliver, Abott⁵⁸ (2001), verificaram a correlação existente entre o sucesso clínico do tratamento e a penetração de corante através da obturação. Para isso, classificaram como sucesso e insucesso (de acordo com as características clínicas e radiográficas) o tratamento endodôntico de 116 dentes indicados para extração. Após a extração, os dentes foram inseridos no corante azul de metileno a 2%, durante 7 dias e a infiltração de corante avaliada em um microscópio. Dos tratamentos classificados como sucesso, 21% apresentaram infiltração de corante no comprimento total da raiz e a média de infiltração de corante foi de 48% do

comprimento total da raiz. Dos tratamentos classificados como insucesso, 32% apresentaram penetração total de corante e a média de infiltração de corante foi de 56% do comprimento total da raiz. Segundo os autores, 99,5% dos espécimes totais (classificados como sucesso e insucesso) apresentaram infiltração de corante. Dessa forma, os autores concluíram que a infiltração de corante é um pobre indicador de que o material ou a técnica de obturação terá ou não sucesso clinicamente e que a validade e a utilidade dos estudos realizados com essa metodologia deveriam ser reavaliados.

Sauáia et al.⁷⁰ (2006) avaliaram a capacidade seladora de diferentes materiais colocados sobre canais radiculares obturados. Sessenta molares extraídos tiveram suas coroas removidas, seus canais instrumentados e posteriormente obturados pela técnica de condensação lateral, utilizando-se o cimento de Roth R-801. Em seguida, com um instrumento aquecido, foram removidos 3mm das obturações e as raízes foram armazenadas em umidade durante 48h. Os espécimes foram divididos em 3 grupos de 20, de acordo com o material restaurador usado sobre a obturação: Cavit, Vitremer e Flow-It. Vinte dentes adicionais foram utilizados como controle. As raízes foram impermeabilizadas, submetidas à ciclagem térmica, imersas em tinta nanquim durante 5 dias e diafanizadas. A infiltração do corante foi avaliada em um estereomicroscópio. Os resultados demonstraram que o Cavit apresentou melhor capacidade de selamento que os demais materiais avaliados, com diferença estatisticamente significante.

2.3.2 Infiltração com bactérias

O estudo da infiltração coronária através da penetração bacteriana tem sido um método bastante empregado atualmente (Baumgartner et al.⁹ 2007, Maltezos et al.⁴⁹ 2006, Saunders et al.⁷¹ 2004), por resultar em informações semelhantes às obtidas com a clínica cotidiana (Timpawat et al.⁸⁹ 2001).

Com o objetivo de avaliar a infiltração através da penetração bacteriana, a porção coronária da raiz é colocada em contato com um meio de cultura inoculado com bactérias e a porção apical da mesma inserida em um meio de cultura esterilizado. Em seguida, as raízes são mantidas em meio adequado para permitir a proliferação bacteriana. Quando o meio de cultura no qual o ápice encontra-se inserido torna-se turvo (Brosco¹⁶ 2006, Maltezos et al.⁴⁹ 2006, Mavec et al.⁵¹ 2006), ou altera sua coloração (Baumgartner et al.⁹ 2007, Maltezos et al.⁴⁹ 2006), (dependendo do meio de cultura utilizado), indica a proliferação de bactérias no mesmo, evidenciando a infiltração das bactérias através da obturação do canal.

No teste de infiltração coronária é importante a utilização de microrganismos relacionados aos dentes que apresentam insucesso no tratamento endodôntico, pois, dessa forma há uma maior aproximação com as condições clínicas (Brosco¹⁶ 2006).

O *Enterococcus faecalis* é um microrganismo freqüentemente associado a dentes que apresentam insucessos na terapia endodôntica, portanto, muitos trabalhos de infiltração coronária têm utilizado esse microrganismo na

avaliação da infiltração (Baumgartner et al.⁹ 2007, Mangin et al.⁵⁰ 2003, Shipper et al.⁷⁷ 2004).

2.3.2.1 A prevalência de *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas

Os *Enterococcus faecalis* são cocos gram-positivos que podem se apresentar isolados, em pares ou em pequenas cadeias. Eles são anaeróbios facultativos, possuindo a capacidade de crescer na presença ou ausência de oxigênio (Brosco¹⁶ 2006, Mchugh et al.⁵³ 2004, Rôças et al.⁶⁷ 2004).

Os *Enterococcus faecalis* podem ser encontrados em diferentes formas de infecções periapicais, incluindo as infecções endodônticas primárias e as infecções persistentes, sendo que a incidência desse microrganismo é muito maior em lesões persistentes do que em infecções primárias (Rôças et al.⁶⁷ 2004, Siqueira Júnior et al.⁸¹ 2002).

Os *Enterococcus faecalis* têm sido identificados atualmente, como as espécies mais comumente encontradas em canais radiculares de dentes com insucesso após o tratamento endodôntico (Sedgley et al.⁷³ 2005, Siqueira Júnior et al.⁸¹ 2002). Dentes com lesões periapicais crônicas têm demonstrado uma prevalência de 24 a 77% de *Enterococcus faecalis*. A grande variação na prevalência tem sido atribuída às diferentes técnicas de identificação e aos diferentes tamanhos da amostra (Brosco¹⁶ 2006).

Siqueira Júnior et al.⁸¹ (2002) verificaram a microbiota de canais radiculares infectados. Cinquenta e cinco dentes com necrose pulpar e presença de lesão periapical foram incluídos nesse estudo, dos quais 26 casos eram

assintomáticos e 27 foram diagnosticados como abscesso dento-alveolar agudo. Após a abertura coronária, os canais radiculares foram preenchidos com soro e as amostras obtidas do interior dos canais, com o auxílio de pontas de papel absorvente. As espécies bacterianas foram determinadas através da biologia molecular. Os resultados demonstraram que todos os canais apresentaram bactérias. Nas lesões assintomáticas, as espécies mais encontradas foram: *Enterococcus faecalis* (11,5%) e *Streptococcus intermedius* (11,5%) e nas lesões sintomáticas (abscessos), as espécies *Streptococcus constellatus* (25,9%) e *Actinomyces gerencseriae* (14,8%).

Rôças et al.⁶⁷ (2004) investigaram a prevalência do *Enterococcus faecalis* em diferentes periapicopatias, através da técnica de reação de cadeia de polimerase (PCR). As amostras foram obtidas dos seguintes espécimes: dentes sem tratamento endodôntico e com lesão periapical crônica; dentes com periodontite apical aguda, dentes com abscesso periapical agudo e dentes com tratamento endodôntico e lesão periapical crônica. Os *Enterococcus faecalis* foram detectados com maior frequência em lesões assintomáticas que em lesões sintomáticas e mais encontrados em casos de falhas de tratamento endodôntico do que em infecções primárias.

2.3.2.1.2 Sobrevivência e fatores de virulência dos *Enterococcus faecalis*

Os *Enterococcus faecalis* possuem certos fatores de virulência que auxiliam na sua sobrevivência. Dentre esses fatores podemos citar: citolisinas, enzimas líticas como gelatinase e hialuronidase envolvidas com a destruição

tecidual, substâncias de agregação (responsáveis pela união aos leucócitos e à matriz extracelular), ferormônios (pequenos peptídeos envolvidos na transferência de plasmídeos e que promovem atração química dos neutrófilos) e ácido lipoteicóico (promove adesão da bactéria aos tecidos do hospedeiro estimula a produção de citocinas pelos monócitos) (Brosco¹⁶ 2006, Rôças et al.⁶⁷ 2004, Siqueira Júnior et al.⁸¹ 2002).

Devido à sua capacidade de resistir aos agentes antimicrobianos usados para a irrigação dos canais radiculares (Rôças et al.⁶⁷ 2004, Sedgley et al.⁷³ 2005, Siqueira Júnior et al.⁸¹ 2002) e ao curativo de hidróxido de cálcio, já que são capazes de sobreviver em pH extremamente alcalino (Mchugh et al.⁵³ 2004, Rôças et al.⁶⁷ 2004, Siqueira Júnior et al.⁸¹ 2002), os *Enterococcus faecalis* podem ser encontrados em canais radiculares que tiveram tratamento endodôntico convencional realizado.

Sedgley et al.⁷³ (2005) relataram que após a obturação dos canais radiculares, as bactérias aprisionadas pelo material obturador geralmente morrem, mas que algumas espécies podem sobreviver por períodos relativamente longos, utilizando nutrientes dos tecidos remanescentes. Love⁴⁷ (2001) relatou que os fluidos teciduais provenientes do ligamento periodontal e do osso alveolar localizado ao redor da raiz podem servir como nutrição para as bactérias aprisionadas no interior dos túbulos dentinários ou no interior dos canais radiculares.

Os *Enterococcus faecalis* apresentam a capacidade de sobreviver a longos períodos sem nutrientes, até que uma fonte nutricional adequada se torne disponível (Rôças et al.⁶⁷ 2004). Sedgley et al.⁷³ (2005) verificaram que os *Enterococcus faecalis* podem permanecer viáveis no interior dos canais radiculares obturados de dentes extraídos por um período de 1 ano, sem a presença de nutrientes adicionais.

Love⁴⁷ (2001) e Stuart et al.⁸⁵ (2006) relataram que os *Enterococcus faecalis* são pequenos o suficiente para invadirem e viverem no interior dos túbulos dentinários. Eles possuem enzimas e proteínas que se unem ao colágeno, possibilitando sua união à dentina. Segundo os autores, esses mecanismos podem explicar o porquê dos *Enterococcus faecalis* agirem como patógeno em dentes que apresentam insucesso no tratamento endodôntico.

Apesar dos *Enterococcus faecalis* possuírem vários fatores de virulência, sua capacidade em causar infecções periapicais se deve principalmente à habilidade que eles possuem de sobreviver durante o tratamento endodôntico e à capacidade de persistirem no canal radicular e túbulos dentinários (Sedgley et al.⁷³ 2005).

A realização de uma obturação completa e tridimensional e um selamento coronário satisfatório podem prevenir a contaminação do canal radicular pelos *Enterococcus faecalis* (Stuart et al.⁸⁵ 2006).

3 Proposição

Avaliar, in vitro, a infiltração bacteriana coroa-ápice do *Enterococcus faecalis* em canais radiculares obturados com os cimentos endodônticos Epiphany, cimento experimental à base do Polímero da Mamona (Polifil), Acroseal, AH Plus e Endofill utilizando como técnica de obturação a condensação lateral ativa.

4 Material e método

4.1 Seleção dos dentes

Para a realização deste estudo foram selecionados 100 incisivos centrais bovinos com comprimento variando entre 23,5 a 25 mm e com raízes completamente formadas.

Após a extração dos dentes, os mesmos foram mantidos em solução de formaldeído* 10%. Após a remoção dos tecidos periodontal e dos cálculos aderidos à superfície da raiz com auxílio de curetas Gracey**, os dentes permaneceram armazenados naquela solução até o preparo biomecânico dos canais radiculares, onde então, foram colocados em solução fisiológica***.

Os dentes foram avaliados clínico-radiograficamente para confirmar ausência de calcificações. Os dentes com esta particularidade foram descartados.

4.2 Preparo Biomecânico dos canais radiculares

Antes da realização do preparo biomecânico, as coroas foram removidas e cada raiz foi seccionada com o auxílio do disco diamantado Isomet****, mantendo-se um comprimento de 14 mm conferidos com paquímetro digital*****. As raízes de todos os grupos foram presas em uma morsa***** para que permanecessem imóveis durante a confecção do preparo biomecânico.

*Farma – Ticli Indústria Farmacêutica – São Paulo – SP – Brasil.

**S.S. White Artigos Dentários LTDA – Juiz de Fora – MG- Brasil.

***Darrow Laboratórios S.A. – Rio de Janeiro – RJ- Brasil

****Buhler Lake- Bluff-IL- USA

*****Maub stainless- Poland

*****Somar Indústria e Comércio- Joinville- SC- Brasil

A determinação do comprimento do dente foi estabelecida com a introdução de uma lima tipo Kerr^{*} n° 40 dentro do canal. O limitador de borracha foi posicionado no terço cervical da raiz quando se observou visualmente, que a ponta do instrumento alcançou o ápice radicular.

Desta forma, esta medida obtida foi mensurada por uma régua milimetrada para determinação do comprimento real do dente (C.R.D.). Estabelecemos o comprimento real de trabalho (C.R.T) a medida reduzida a 1 mm do comprimento real do dente. Nesse experimento o C. R. T. foi padronizado em 13 mm.

Para todos os espécimes a biomecânica dos canais radiculares foi realizada pela técnica escalonada com recuo programado (técnica “step-back”). Empregamos limas tipo Kerr de 2° e 3° séries de comprimento de 25 mm. Ao se iniciar a instrumentação, tomamos cuidado de manter os instrumentos no comprimento real do dente, até o instrumento de n° 70. Assim, padronizamos o diâmetro do forame dos espécimes com a lima de n° 70. Progressivamente, a partir deste instrumento, os canais radiculares foram biomecanizados respeitando o C.R.T. confeccionando o batente apical com a lima n°100. A cada troca de lima, o canal foi copiosamente irrigado com 3 mL hipoclorito de sódio a 1 % com auxílio de uma seringa Luer-Look^{**} e uma cânula de irrigação 30 x 4^{***}.

^{*}Dentsply Maillefer- Petrópolis- RJ- Brasil

^{**}Duflex- S.S. White Artigos Dentários LTDA – Rio de Janeiro- RJ – Brasil

^{***}BD – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas LTDA – Rio de Janeiro – RJ- Brasil

Após a confecção do batente apical, desbridamento do forame e escalonamento do canal até a lima nº 130, a toilette final foi feita irrigando-se o canal com ácido etileno diamino tetracético (EDTA)* a 17%, por 3 minutos. Este passo teve por finalidade a remoção da lama dentinária, “*smear layer*”, provocada pela ação cortante dos instrumentos nas paredes dentinárias. Nesta etapa empregamos durante 3 minutos a lima memória tipo K nº 100 para agitar o EDTA, seguindo-se com irrigação abundante com 5mL de soro fisiológico para a neutralização. A secagem do canal principal foi realizada com 15 pontas de papel absorvente** com diâmetro compatível ao batente apical. A partir desta fase, os canais estavam preparados para receber a obturação radicular. Até a fase subsequente, os dentes foram armazenados em soro fisiológico à temperatura ambiente.

4.3 Obturação do canal radicular

Os dentes foram divididos e obturados em 5 grupos experimentais compostos por 20 espécimes cada, sendo preparados 1 dente como controle positivo (obturação apenas com cones de guta-percha de 2º série rolados à mão e a superfície radicular externa impermeabilizada com cola araldite de presa rápida/10 minutos***, excluindo-se 1 mm ao redor do forame apical) e 1 dente como controle negativo (obturação apenas com cones de guta-percha de 2º série rolados à mão e a superfície radicular externa totalmente impermeabilizada com cola araldite). (Tabelas 1, A1)

* Odahcam Dentsply Indústria e Comércio LTDA – Petrópolis- RJ – Brasil

** Endopoints Indústria e Comércio LTDA – Paraíba do Sul – RJ- Brasil

*** Brascola LTDA- Indústria Brasileira- Taboão da Serra- SP-Brasil

Tabela 1- Delineamento da metodologia

Grupos	Número de dentes	Cimentos Endodônticos (Composição em anexo)	Técnica de Instrumentação	Técnicas de Obturação
*Grupo I	18	Epiphany	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Condenção Lateral Ativa
Grupo II	18	Polifil	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Condenção Lateral Ativa
Grupo III	18	Acroseal	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Condenção Lateral Ativa
Grupo IV	18	AH Plus	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Condenção Lateral Ativa
Grupo V	18	Endofill	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Condenção Lateral Ativa
**C+	5	Ausente	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Cone principal
***C-	5	Ausente	Recuo programado <i>("Step back")</i>	Cone principal

* Os controles positivo e negativo do Grupo I foram obturados com cones resinosos rolados à mão Resilon™- Pentron Clinical Technologies, LLC., Wallingford-EUA).

* * Grupo controle positivo (canal radicular obturado apenas com cones de gutapercha de 2º série rolados à mão. Superfície radicular externa impermeabilizada com cola araldite, excluindo-se 1mm ao redor do forame apical).

*** Grupo controle negativo (canal radicular obturado apenas com cones de gutapercha de 2º série rolados à mão e superfície radicular externa totalmente impermeabilizada com cola araldite).

4.3.1 Seleção do cone principal

Nos grupos II a V da tabela acima, foram selecionados 7 cones de guta-percha de 2º série*, os quais foram rolados à mão, com o auxílio de 2 placas de vidro e 1 lamparina. O mesmo procedimento foi realizado no grupo I, com a diferença que os cones rolados foram os resinosos Resilon™.

A extremidade do cone foi seccionada com uma lâmina afiada de bisturi nº 11**. O cone foi considerado adequado ao penetrar no comprimento de trabalho e apresentar uma leve resistência, ou seja, um pequeno travamento durante a remoção.

4.3.2 Preparo dos cimentos obturadores

4.3.2.1 Cimento endodôntico Epiphany

Para a obturação dos canais radiculares foi realizado o condicionamento da dentina radicular com o Primer Epiphany*** levado ao canal radicular com o auxílio do Appli-Brush™, fornecido pelo fabricante e o excesso removido com pontas de papel absorvente. A seguir, o cimento Epiphany foi preparado de acordo com as instruções do fabricante e levado ao canal em toda sua extensão, com o auxílio do instrumento memória (lima tipo k nº 100) e do cone principal previamente confeccionado.

*Tanariman Industrial LTDA- Manacapuru- AM-Brasil

**BD – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas LTDA- Rio de Janeiro- RJ- Brasil

***Pentron Clinical Technologies, LLC., Wallingford-EUA

Foi realizada a técnica de Condensação Lateral Ativa, utilizando em média 15 cones auxiliares do próprio sistema Epiphany e espaçador digital tamanho C* de 21 mm de comprimento, até que fosse obtida a completa obturação do canal radicular, confirmada radiograficamente.

Com condensadores tipo Paiva aquecidos por uma lamparina, o excesso do material obturador foi cortado e após a condensação vertical, bolinhas de algodão esterilizadas com álcool limpavam o terço cervical da obturação que foi polimerizado por 40 segundos, com o auxílio de um fotopolimerizador**.

4.3.2.2 Cimento endodôntico experimental à base do Polímero da mamona (Polifil)

O Polifil apresenta-se na formas líquida e pastosa. Ao polímero foi adicionado óxido de zinco e carbonato de cálcio com o intuito de proporcionar radiopacidade ao cimento e misturado a este sobre uma placa de vidro até formar uma pasta homogênea. Essa mistura foi levada a uma seringa plástica^(c) mantida fechada até o momento do uso. O pré-polímero também foi colocado em uma seringa plástica***, no entanto, apenas no momento do preparo do cimento. Para a obtenção da correta proporção do material: 0,44g da pasta para 0,18g do pré-polímero foi utilizada uma balança de precisão****.

*Dentsply- Maillefer- Ballaigues- Suíça

**Ultralux Eletronic- Dabi Atlante- Ribeirão Preto- SP

***BD – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas LTDA- Rio de Janeiro- RJ- Brasil

****ALEMMAR Comercial e Industrial SA- São Paulo- SP- Brasil

A seguir, o cimento Polifil foi preparado de acordo com as instruções do fabricante e levado ao canal em toda sua extensão, com o auxílio do instrumento memória (lima tipo k nº 100) e do cone principal previamente confeccionado. Foi realizada a técnica de Condensação Lateral Ativa, utilizando em média 15 cones auxiliares FM* e espaçador digital tamanho C de 21 mm de comprimento, até que fosse obtida a completa obturação do canal radicular, confirmada radiograficamente.

Com condensadores tipo Paiva aquecidos por uma lamparina, o excesso do material obturador foi cortado e após a condensação vertical, bolinhas de algodão esterilizadas com álcool limpam o terço cervical da obturação.

4.3.2.3 Cimentos endodônticos Acroseal e AH Plus

Foram proporcionadas quantidades iguais de pasta catalisadora e pasta base sobre um bloco de papel especial fornecido pelo fabricante, em quantidade suficiente para o preenchimento de 3 canais radiculares de cada grupo por vez. As pastas foram manipuladas e espatuladas com o auxílio de uma espátula nº 24**, até se obter uma mistura homogênea. A seguir, os cimentos foram levados ao canal em toda sua extensão, com o auxílio do instrumento memória (lima tipo k nº 100) e do cone principal previamente confeccionado.

*Tanariman Industrial LTDA- Manacapuru- AM-Brasil

** Duflex, Artigos Dentários LTDA, Juiz de Fora, MG, Brasil.

Foi realizada a técnica de Condensação Lateral Ativa, utilizando em média 15 cones auxiliares FM e espaçador digital tamanho C de 21 mm de comprimento, até que fosse obtida a completa obturação do canal radicular, confirmada radiograficamente.

Com condensadores tipo Paiva aquecidos por uma lamparina, o excesso do material obturador foi cortado e após a condensação vertical, bolinhas de algodão esterilizadas com álcool limpam o terço cervical da obturação.

4.3.2.4 Cimento endodôntico Endofill

O cimento Endofill apresenta-se nas formas de pó e líquido. Foi manipulado em uma placa de vidro, na proporção de 0,5 g de pó para 5 gotas de líquido, já que nessa proporção ele fica com a consistência de fio ao levantar a espátula por cerca de 2 cm^{11, 14}, consistência recomendada pelo fabricante. A seguir, o cimento Endofill foi levado ao canal em toda sua extensão, com o auxílio do instrumento memória (lima tipo k nº 100) e do cone principal previamente confeccionado. Foi realizada a técnica de Condensação Lateral Ativa, utilizando em média 15 cones auxiliares FM e espaçador digital tamanho C de 21 mm de comprimento, até que fosse obtida a completa obturação do canal radicular, confirmada radiograficamente.

Com condensadores tipo Paiva aquecidos por uma lamparina, o excesso do material obturador foi cortado e após a condensação vertical, bolinhas de algodão esterilizadas com álcool limpam o terço cervical da obturação.

4.4 Armazenagem das amostras e corte da obturação

Após a obturação, as amostras foram mantidas em meio úmido. Para isto, foram utilizados recipientes plásticos retangulares com tampa, com aproximadamente 12 cm de comprimento, 8 cm de largura e 8 cm de altura (potes de margarina)*, identificados com etiquetas de acordo com o cimento endodôntico usado. No fundo desses potes foram colocadas gazes úmidas e os espécimes foram posicionados sobre elas. Os recipientes foram tampados e deixados em temperatura ambiente por 14 dias. Após esse período foram colocados stops de silicone** em condensadores tipo Paiva. Os mesmos foram aquecidos, posicionados no terço cervical da obturação, removendo 3 mm do material. Em seguida, utilizamos calcadores frios fazendo condensação vertical. Dessa forma, houve um remanescente de 10 mm de obturação.

4.5 Avaliação Microbiológica

4.5.1 Impermeabilização dos remanescentes radiculares

Para facilitar o manuseio dos remanescentes radiculares, foram introduzidos na embocadura dos canais, palitos de madeira, fixados com bolinhas de cera utilidade***. Em seguida, foi realizada a impermeabilização da superfície externa das 100 raízes com duas camadas da cola araldite de presa rápida/10 minutos, que foram aplicadas com o auxílio de um pincel****.

* Bunge Alimentos AS- São Paulo-SP- Brasil

** Dentsply Maillefer- Petrópolis- RJ- Brasil

*** Polidental Indústria e Comércio LTDA- São Paulo- SP- Brasil

**** Tigre SA- Brasil

Nos grupos experimentais e no controle positivo, a impermeabilização não foi realizada nas proximidades da embocadura do canal radicular e do forame apical, numa extensão média de 1 mm ao redor dos mesmos.

No grupo controle negativo, a impermeabilização incluiu a região do forame apical, permanecendo sem camada impermeabilizadora, apenas a embocadura dos canais radiculares.

Após a aplicação de cada camada impermeabilizadora, aguardamos um intervalo de 12 horas. Durante este período, os remanescentes radiculares permaneceram fixados em uma lâmina de cera utilidade, em ambiente seco. Posteriormente, os palitos de madeira e as bolinhas de cera foram removidos das embocaduras dos canais radiculares.

4.5.2 Montagem dos remanescentes radiculares em eppendorfs e esterilização dos conjuntos

Em seguida, os remanescentes radiculares foram montados em um dispositivo para que se realizasse a infiltração bacteriana posteriormente. Para isso, foram utilizados microtubos de polipropileno* (tubos para centrífuga do tipo eppendorf) com capacidade de 1,5 mL.

A extremidade menor (fundo) dos eppendorfs foi seccionada transversalmente com disco de carborundum, de tal forma que ao inserir os remanescentes radiculares, aproximadamente 5 mm da sua porção apical ficasse projetada para fora do tubo plástico.

* Axygen Scientific Inc.- USA

A junção entre o remanescente radicular e o eppendorf foi selada com araldite de presa rápida, com o auxílio de um palito de madeira. Para evitar que a cola entrasse em contato com o forame apical durante a união do remanescente radicular ao eppendorf, foi colocada uma bolinha de cera utilidade em contato com o forame apical, que, após a presa da araldite, foi removida.

Após a montagem dos remanescentes radiculares, os eppendorfs foram identificados com o número correspondente de cada amostra e cada conjunto (remanescente radicular e eppendorf) foi embalado individualmente e esterilizado em gás de óxido de etileno* na temperatura de 56° C, durante 4 horas.

4.5.3 Preparo dos frascos de vidro contendo meio “Brain heart infusion” (BHI)

Cem frascos tipo penicilina foram lavados, secos e tampados com algodão. A seguir, foram embalados e esterilizados em estufa, aos 160°C, durante 120 minutos.

O caldo de BHI** foi preparado seguindo as instruções do fabricante e alíquotas de 6 mL deste caldo foram distribuídas em cada 1 dos 100 frascos de vidro.

Em seguida, os frascos foram submetidos à esterilização em autoclave***, aos 120°C, durante 20 minutos e após a esterilização, foram mantidos em estufa a 37°C, durante 24 horas, para confirmação da esterilidade.

*Sterileno, Sorocaba, São Paulo- SP-Brasil

**Difco Laboratories- Becton Dickinson and Company- USA

***Seron Ind e Com. De Aparelhos Médicos Hospitalares LTDA- Mogi das Cruzes- SP-Brasil

4.5.4 Montagem final do dispositivo para o teste de infiltração

Esse procedimento foi realizado próximo à chama no interior de uma câmara de fluxo laminar para evitar contaminação dos espécimes e todos os instrumentos utilizados foram previamente esterilizados.

Para a montagem final do dispositivo de infiltração, os conjuntos (raiz e eppendorf) foram desembalados e adaptados nos frascos tipo penicilina (contendo o caldo BHI esterilizado), com o auxílio de pinças clínicas*.

O dispositivo foi montado de modo que a porção apical dos remanescentes radiculares permanecesse imersa no caldo de BHI.

A junção entre o eppendorf e o frasco de vidro foi preenchida com araldite de presa rápida, com o auxílio de palitos de madeira (Figura 1).

Os frascos tipo penicilina foram identificados numericamente e os dispositivos mantidos em estufa a 37°C, durante 4 dias, para confirmação da esterilidade do conjunto. Caso alguma amostra mostrasse turvação do caldo de BHI, a mesma seria descartada, pois indicaria contaminação durante a montagem do dispositivo de infiltração.

*Duflex, Artigos Dentários LTDA, Juiz de Fora, MG, Brasil.



FIGURA 1 – Modelo do aparato para mensuração da microinfiltração.

4.5.5 Teste de Infiltração coronária

Uma cultura de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 foi utilizada na avaliação da infiltração bacteriana. Previamente à inoculação do meio nos espécimes foi realizada a ativação das cepas de *Enterococcus faecalis* em meio BHI. Foi realizada a comprovação morfológica do microrganismo pelo teste de gram e realizados repiques diários por 15 dias. Um dia antes de ser inoculado o meio nas amostras, dois repiques com intervalo de 12 horas foram realizados para aquisição da bactéria na fase com maior potencial de crescimento. Com auxílio de uma pipeta, 1mL foi transferido a 70 mL de caldo B.H.I. Foram realizadas diluições deste meio e semeamos em placas de petri (MEIO), após 24 horas, para a quantificação do número de UFC/mL. Com auxílio de uma pipeta de precisão foram transferidos 400 μ L de uma cultura recente em caldo BHI para a porção

superior do tubo Eppendorf que apresenta na porção superior uma tampa que fica livre para abertura e fechamento durante todo o experimento.

Após 7 dias, o caldo de BHI inoculado com *Enterococcus faecalis* (que estava em contato com a porção coronária das obturações) foi trocado por uma nova alíquota de 400 µL de caldo BHI esterilizado, sem que novos microrganismos fossem adicionados.

A remoção do caldo inoculado com *Enterococcus faecalis* e a transferência do novo caldo de BHI esterilizado foram realizadas em condições assépticas, através do uso de pipetas de precisão, sendo empregada uma ponteira descartável para cada procedimento.

As amostras foram checadas diariamente, por um período de 64 dias, sendo a infiltração coronária constatada quando o meio de BHI em contato com a porção apical do remanescente radicular (localizado na parte inferior do frasco tipo penicilina) tornava-se turvo, indicando a passagem da bactéria através da obturação do canal radicular. A cada infiltração constatada, eram anotados o dia e o número do espécime (Figura 2) e então era realizado o teste de gram para de confirmar a pureza da amostra.



FIGURA 2 – Espécime sem infiltração coronária e espécime com infiltração coronária, evidenciada através da turvação do meio de cultura (BHI) em contato com a porção apical do remanescente radicular.

4.5.6 Teste de viabilidade das bactérias

Semanalmente, a cada troca do caldo BHI, 2 espécimes de cada grupo foram escolhidos seqüencialmente, para a realização do teste de viabilidade das bactérias.

Para a confirmação da viabilidade da bactéria, 100 µL do caldo presente na parte superior do eppendorf (que seriam descartados), foram transferidos para tubos de rosca de 13x100 mm, contendo 4 mL de caldo BHI esterilizado e mantidos em estufa a 37° C. A sobrevivência da bactéria era constatada através da turvação do meio de cultura.

Esse procedimento foi realizado para confirmar a viabilidade dos microrganismos presentes na parte superior dos eppendorfs durante todo o período de avaliação da infiltração coronária.

4.6 Análise Estatística

A partir dos dados obtidos, realizou-se a análise estatística dos resultados. Foi utilizado o método não-paramétrico de Kaplan-Meier e o teste de Kruskal-Wallis, complementado por comparações múltiplas pelo teste de Dunn. Adotou-se o nível de significância de 5%.

5 Resultado

5.1 Avaliação Microbiológica

Nenhum dos remanescentes radiculares do grupo controle negativo apresentou infiltração coronária bacteriana, comprovando a eficácia da impermeabilização externa das raízes com araldite.

Todos os remanescentes radiculares do grupo controle positivo apresentaram infiltração coronária nas primeiras 24 horas, evidenciando que obturações mal realizadas permitem uma rápida infiltração de bactérias entre o material obturador e as paredes do canal radicular.

Na Tabela 2 podemos observar os diferentes grupos avaliados, a extensão da obturação e o nº de amostras em cada um dos cimentos endodônticos utilizados.

De um total de 100 remanescentes radiculares, 1 amostra foi descartada (Grupo controle positivo/guta-percha) porque houve contaminação do meio de cultura durante a montagem do dispositivo de infiltração.

Em seguida, a Tabela 3 irá mostrar o número de remanescentes radiculares que apresentaram infiltração coronária nos diferentes grupos, durante o período de avaliação (64 dias).

Tabela 2- Número de espécimes avaliados nos diferentes grupos

Grupos	Número de dentes	Cimentos Endodônticos	Extensão da obturação (mm)
Grupo I	18	Epiphany	10
Grupo II	18	Polifil	10
Grupo III	18	Acroseal	10
Grupo IV	18	AH Plus	10
Grupo V	18	Endofill	10
C+	4	Ausente	10 (guta-percha ou Resilon)
C-	5	Ausente	10 (guta-percha ou Resilon)

Tabela 3- Número de remanescentes radiculares que apresentaram infiltração coronária nos diferentes grupos, durante o período de avaliação (64 dias)

GRUPOS						
DIAS	EPIPHANY	AH PLUS	ACROSEAL	POLIFIL	ENDOFILL	TOTAL
1°	2	7	2	1	8	20
2°	1	0	1	0	1	3
5°	1	0	1	0	0	2
6°	0	1	1	0	0	2
8°	1	3	1	1	0	6
15°	1	0	0	1	0	2
19°	0	1	0	0	1	2
22°	1	1	0	1	1	4
23°	0	0	1	0	1	2
28°	1	0	1	0	0	2
33°	2	1	2	0	1	6
35°	1	2	0	2	1	6
36°	1	0	1	0	1	3
37°	1	0	0	0	0	1
41°	1	0	0	0	0	1
44°	0	2	0	0	0	2
50°	0	0	1	0	0	1
54°	0	0	1	2	0	3
55°	1	0	0	1	1	3
56°	0	0	0	3	0	3
57°	0	0	0	1	0	1
61°	1	0	1	1	1	4
62°	1	0	2	1	1	5
64°	1	0	2	3	0	6
TOTAL	18	18	18	18	18	90

As amostras seriam avaliadas por 90 dias, mas com 64 dias todas elas apresentaram infiltração bacteriana, evidenciada através da turvação do caldo, comprovando que qualquer material torna-se susceptível à penetração de microrganismos devido à falta do selamento coronário.

Em cada amostra que turvava, era desmontado o conjunto para que pudesse ser feito o teste de gram e em todos os casos, pôde-se constatar que o inócuo bacteriano se manteve puro (*Enterococcus faecalis*).

A partir dos dados obtidos, realizou-se a análise estatística dos resultados. O método não-paramétrico de Kaplan-Meier foi usado para estimar, em relação a cada cimento obturador deste estudo, a função que representa a proporção de espécimes que permaneceram sem apresentar infiltração bacteriana além de certo tempo. Considerou-se adequado a utilização do teste de Kruskal-Wallis para comparar os cimentos quanto ao tempo de resistência à infiltração, já que o período experimental foi o número de dias até que o último espécime sofresse infiltração bacteriana. Este procedimento de análise foi complementado por comparações múltiplas pelo teste de Dunn. Adotou-se o nível de significância de 5% para a tomada de decisões.

Na Tabela 4 são mostradas as estatísticas descritivas: mínimo, 1º quartil, mediana (2º quartil), 3º quartil e máximo do tempo, em dias, decorrido até a infiltração bacteriana coroa-ápice do *Enterococcus faecalis* em canais radiculares obturados com os cimentos endodônticos Epiphany, AH Plus, Acroseal, cimento experimental à base do Polímero da Mamona (Polifil) e o Endofill utilizando como técnica de obturação a condensação lateral ativa. Os

quartis estimam os tempos até os quais apresentaram infiltração, respectivamente, 25%, 50% e 75% dos espécimes de cada cimento obturador.

O teste de Kruskal-Wallis apontou evidência de diferença significativa entre os cimentos obturadores quanto ao tempo de resistência à infiltração ($p=0,0015$). Para identificar os cimentos com efeitos diferentes foram realizadas comparações múltiplas pelo teste de Dunn (Tabela A2). O resultado é mostrado na Tabela 4 de forma que letras iguais identificam cimentos com efeitos não diferentes, significativamente em relação à resistência à infiltração, ao nível de 5%.

Tabela 4 - Estatísticas descritivas do tempo, em dias, decorridos até a infiltração

Cimento	Mínimo	1º quartil	Mediana	3º quartil	Máximo	Teste de Dunn*
Epiphany	1,0	9,8	33,0	40,0	63,0	ab
AH Plus	1,0	1,0	8,0	30,3	44,0	a
Acroseal	1,0	6,5	33,0	59,3	64,0	ab
Polifil	1,0	35,0	55,0	57,0	64,0	b
Endofil	1,0	1,0	10,5	34,5	62,0	a

*letras iguais indicam diferença não significativa ao nível de 5%

A Figura 3 mostra o "gráfico de sobrevivência" obtido pelo método de Kaplan-Meier que fornece a proporção de espécimes que resistiram à infiltração bacteriana além de certo tempo t . Por este gráfico e o resultado das comparações pelo teste de Dunn da Tabela 4, verifica-se que o AH Plus e o Endofil apresentaram resistência à infiltração significativamente menor do que o Polifil, mas equivalentes entre si. Os cimentos Epiphany e Acroseal deram resultados intermediários e equivalentes, mas sem diferença estatisticamente significativa em relação aos outros cimentos.

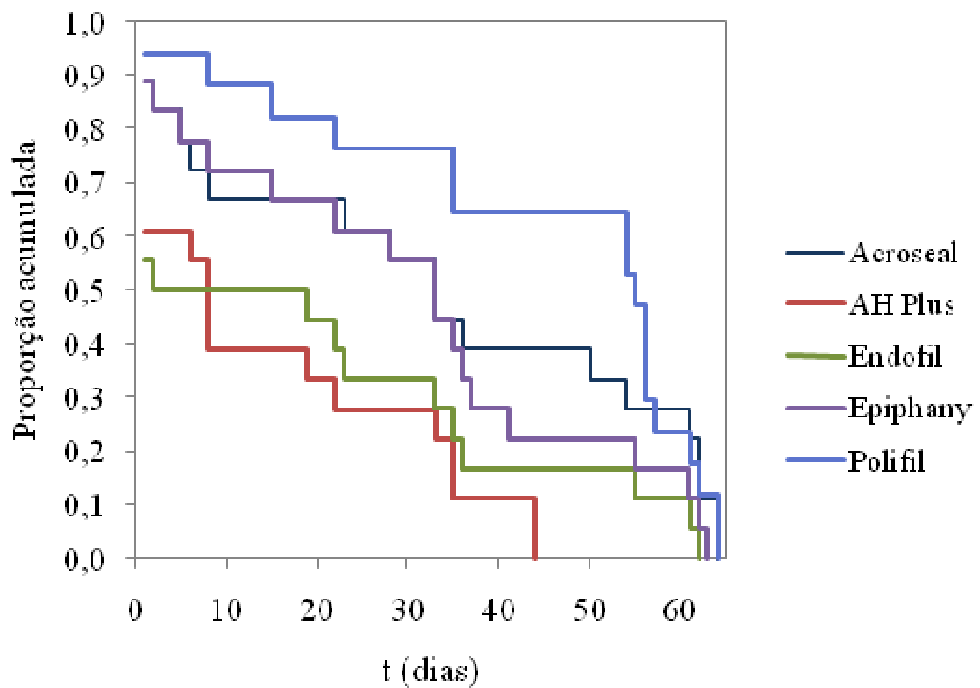


FIGURA 3- Gráfico da resistência à infiltração bacteriana nos diferentes grupos.

6 Discussão

6.1 Discussão da Metodologia

O êxito do tratamento endodôntico está relacionado ao completo selamento do canal radicular. Assim, a eliminação das bactérias por meio do preparo biomecânico e a prevenção da recontaminação dos mesmos é uma condição essencial para o sucesso da terapia^{23, 79}.

A maioria dos estudos avalia a infiltração coronária *in vitro*, apesar de o ideal ser demonstrar a infiltração coronária *in vivo*¹⁶.

Nos estudos *in vivo*, em humanos ou animais, haveria uma melhor aproximação da realidade clínica, no entanto, existem inúmeras variáveis como anatomia dos dentes, preparo biomecânico do canal radicular, materiais e técnicas de obturação, bem como a habilidade do operador, que são difíceis de serem controladas e podem influenciar nos resultados^{4, 16}.

In vitro, a maioria dessas variáveis pode ser controlada e se o modelo reproduzir com fidelidade o fenômeno *in vivo*, podemos obter resultados consistentes do potencial da penetração bacteriana em canais radiculares obturados, no entanto, trata-se de um modelo estático, que não simula algumas condições da cavidade bucal como: alterações de temperatura, diversidade da microbiota, nutrientes disponíveis e influência dos fluídos e tecidos periapicais. Assim, uma extrapolação dos resultados para situação clínica deve ser realizada com cuidado^{4, 9, 16, 26, 79}.

Para esse trabalho, foram selecionados incisivos centrais bovinos extraídos, com o objetivo de simular as condições clínicas em que o tratamento

endodôntico é realizado. Segundo alguns autores como^{17, 65} o uso de dentes bovinos é plenamente justificável em estudos científicos, por haverem poucas ou nenhuma diferença macro ou microscópica com relação à anatomia dos dentes humanos, além de serem espécimes de fácil obtenção. Camargo et al.²⁰ (2007), realizaram um estudo com microscopia eletrônica de varredura, comparando os túbulos dentinários de dentes humanos e bovinos qualitativamente e quantitativamente. Os autores verificaram que há uma quantidade maior de túbulos dentinários nos dentes bovinos, principalmente no terço cervical, entretanto, não há diferença estatisticamente significante com relação ao diâmetro dos mesmos, seja nos terços cervical, médio ou apical da raiz.

Com a finalidade de padronizar a extensão da obturação, as coroas dentárias, juntamente com uma parte da porção radicular foram seccionadas com o auxílio do disco diamantado Isomet³⁸.

Os dentes foram armazenados em formaldeído a 10%⁷¹ e, posteriormente mantidos em solução fisiológica⁵, para que permanecessem hidratados durante todo o trabalho.

Nesse estudo, removemos a coroa dentária, previamente à realização do tratamento endodôntico, assim como preconizaram autores como Barthel et al.⁸ (2006), na realização de seus experimentos.

Para simular as condições clínicas do dente preso ao alvéolo, durante a instrumentação e obturação das raízes, as mesmas foram fixadas em uma morsa, para que pudessem permanecer imóveis, permitindo ao operador trabalhar com as 2 mãos¹⁶.

A odontometria foi realizada através da visualização da lima no forame apical², por ser esse método simples, prático e confiável na determinação do comprimento do dente.

Com o objetivo de se evitar possíveis modificações ocorrentes quando a instrumentação é realizada por diferentes operadores, os canais radiculares foram preparados manualmente por um único operador. O batente apical foi confeccionado 1 mm aquém do forame apical por ser essa, aproximadamente, a localização do limite CDC (cimento-dentina-canal)⁴⁵ e para criar um anteparo para o ajuste e travamento do cone principal. Na seqüência, utilizamos a técnica escalonada regressiva, (técnica “step-back”), a qual proporciona um preparo satisfatório dos canais radiculares, possibilitando que as técnicas de obturação pudessem ser realizadas de maneira adequada.

Assim como os trabalhos de Khayat et al.⁴² e Torabinejad et al.⁹⁰, realizamos a remoção dos resíduos que permaneceram no milímetro apical do canal (desbridamento), após a instrumentação, com o objetivo de permitir um contato direto entre o meio de cultura (em contato com a porção apical da raiz) e a obturação do canal radicular. O alargamento do forame apical em tamanhos padronizados pôde permitir um fluxo de microrganismos mais contínuo e regular²⁴.

Em seguida, foi realizada a irrigação dos canais radiculares com uma solução de EDTA a 17%, durante 3 minutos, para a remoção da “smear layer”^{2, 27}.

A “smear layer” é uma camada constituída por componentes orgânicos e inorgânicos^{2, 27}, a qual possui de 1 a 2 micrometros de espessura

aderida à parede dentinária do canal radicular e se estende cerca de 40 micrometros no interior dos túbulos dentinários²⁷. Se a “smear layer” não fosse removida após a instrumentação do canal, poderia funcionar como um substrato para a proliferação de bactérias, servir como um caminho para a circulação bacteriana entre a obturação e o canal radicular, dificultar a ação do medicamento intracanal, assim como interferir no embricamento mecânico entre o cimento obturador e as paredes do canal^{2, 27}. Dessa forma, a eliminação da “smear layer” pôde trazer efeitos benéficos para a terapia endodôntica^{16, 66, 69}.

Os canais radiculares foram obturados com os cimentos endodônticos Epiphany, cimento experimental do Polímero da Mamona (Polifil), Acroseal, AH Plus e Endofill, os quais foram manipulados segundo as instruções de cada fabricante.

Em todos os canais, os cimentos endodônticos foram levados através da técnica clássica, com o instrumento memória (lima tipo K n. 100). Em todas as raízes foi observado o extravasamento do cimento pelo forame apical, constatando o completo preenchimento do canal radicular e também que o desbridamento foraminal foi realizado de maneira adequada, não estando esta área obliterada por raspas de dentina, o que poderia interferir no teste de infiltração. Em seguida, o cone principal de guta-percha previamente rolado à mão, foi envolto em cimento e posicionado.

A condensação lateral é a técnica de obturação dos canais radiculares mais amplamente utilizada na Endodontia³⁰ devido à sua facilidade, preparo conservador do canal radicular, simplicidade, eficiência e capacidade em controlar

a extensão da obturação³⁹. Nesse estudo, empregamos a técnica de Condensação Lateral Ativa. Um espaçador digital tamanho C de 21 mm de comprimento abriu espaço no material obturador e ao ser removido no sentido anti-horário, foram colocados cones auxiliares FM (15 em média), até que fosse obtida a completa obturação do canal radicular, confirmada radiograficamente.

O corte do excesso do material obturador foi feito com condensadores tipo Paiva aquecidos, com posterior condensação vertical da obturação.

Os instrumentos aquecidos são mais seguros por promoverem uma menor interferência no selamento apical⁴⁸, entretanto, o corte da obturação pôde ser realizado com condensadores aquecidos ou brocas. Devido a essas vantagens e à pequena extensão da obturação a ser removida (3 mm), neste estudo, optaremos por realizar o corte do material obturador com instrumentos aquecidos. Nesta pesquisa foi avaliada a extensão de 10 mm do material obturador, pois segundo os trabalhos de Jacobson et al.³⁸ e Saunders et al.⁷¹, essa extensão é proporcional à de um tratamento endodôntico convencional.

A infiltração coronária pode ser avaliada através da penetração de corantes^{54, 63, 70, 93}, transporte de fluido⁹⁹ ou penetração de bactérias^{9, 26, 77, 80, 100} ao longo da obturação dos canais radiculares.

Na avaliação da infiltração coronária com corantes, após a obturação do canal radicular, o dente é imerso no corante por um período pré-estabelecido e posteriormente é seccionado. A infiltração coronária é determinada através da marcação do corante na dentina, na interface entre a parede dentinária e a obturação do canal⁹³.

Esse tipo de metodologia apresenta algumas desvantagens, apesar de ser simples e de fácil execução. O corante azul de metileno, amplamente utilizado, apresenta um baixo peso molecular, podendo penetrar em áreas não acessíveis pelas bactérias^{79, 89} e resultar em informações maiores que as obtidas clinicamente. Outra desvantagem desse corante consiste na sua incompatibilidade com materiais alcalinos amplamente utilizados na terapêutica endodôntica. Segundo Wu et al.⁹⁸, o azul de metileno é instável em soluções alcalinas, podendo reagir com o hidróxido de cálcio e o MTA tornando-se incolor, interferindo na marcação da infiltração e levando a falsas interpretações dos resultados.

A infiltração coronária com corantes também pode ser avaliada através da diafanização. Neste método, após os dentes serem removidos do corante (dos quais a tinta nanquim é a mais utilizada)^{54, 63, 70, 86} eles são desmineralizados em ácido nítrico, desidratados em soluções crescentes de álcool e, finalmente, clareados em metil salicilato, o que possibilita a visualização da infiltração através da transparência dos espécimes. Essa técnica apresenta como vantagens a visualização tridimensional da obturação e a preservação da estrutura dentária⁵⁰, entretanto, a tinta nanquim apresenta 10 micrometros de tamanho e pode não penetrar no interior dos túbulos dentinários ou em pequenas deficiências presentes nas obturações dos canais radiculares⁷⁰.

A avaliação da infiltração coronária com corante tem sido questionada devido às restrições que essa metodologia apresenta. Oliver, Abbott⁵⁸ constataram que o corante é um pobre indicador de que o material ou a técnica de obturação

terá ou não sucesso clinicamente e que a validade e a utilidade dos estudos realizados com a metodologia deveriam ser reavaliados.

O método de transporte de fluido, proposto por Wu et al.⁹⁹ consiste em um tubo plástico, que é adaptado na porção coronária da raiz e preenchido com água. Um outro tubo de plástico é utilizado, sendo que uma das suas extremidades fica em contato com a região apical da raiz e a outra com um tubo capilar (tubo de vidro de diâmetro reduzido). O tubo capilar é preenchido com água com a finalidade de forçar a sua passagem através dos vazios da obturação. A infiltração é determinada através do movimento da bolha de ar dentro do capilar, o que indicará a quantidade de água que atravessou a obturação do canal radicular.

A avaliação da infiltração coronária através da penetração bacteriana tem sido um método bastante empregado atualmente^{9, 26, 71} porque fornece informações biologicamente semelhantes às encontradas clinicamente^{49, 89}.

Para a avaliação da infiltração coronária bacteriana, a porção coronária da raiz é inserida em um reservatório que contém um meio de cultura inoculado com bactérias e a porção apical da mesma é introduzida em contato com um meio de cultura esterilizado. Quando o meio de cultura no qual o ápice encontra-se inserido torna-se turvo^{9, 51, 80} ou altera sua coloração^{26, 49, 90} (dependendo do meio de cultura utilizado), indica a proliferação de bactérias no mesmo, evidenciando a infiltração das bactérias através da obturação do canal radicular.

Para avaliar a infiltração coronária através de microrganismos, a literatura nos mostra vários métodos^{49, 90}. Neste estudo, como preconizado pela

maioria dos autores^{9, 26, 50, 57} foi confeccionado um aparato composto por um microtubo para centrífuga (eppendorf), no qual foi possível a montagem dos remanescentes radiculares. Após a adaptação da raiz ao eppendorf, o espaço entre eles (junção) foi preenchido com araldite de presa rápida com o intuito de fixar o dente no eppendorf e impedir posteriormente a passagem do meio de cultura nessa área¹⁶.

A impermeabilização da superfície externa das raízes com araldite¹⁵ foi realizada com o objetivo de evitar que os microrganismos inseridos durante o teste de infiltração coronária penetrassem por outras áreas que não fosse a obturação do canal, ou seja, pela superfície externa da raiz, através dos túbulos dentinários ou canais laterais e acessórios¹⁶.

Nos espécimes do grupo controle negativo, a impermeabilização incluía o forame apical. Esse grupo foi realizado para avaliar a eficácia do material impermeabilizante, isto é, se realmente ele impedia a passagem das bactérias nas áreas em que estivessem presentes¹⁶.

Previamente ao teste de infiltração bacteriana, os espécimes foram esterilizados. A seleção de um método de esterilização adequado é importante, sendo que, alguns autores preconizam que a esterilização deve ser realizada em autoclaves⁷¹, outros no hipoclorito de sódio⁹⁰ e os outros ainda em radiação gama²⁴.

Segundo Jacobson et al.³⁸, a esterilização em autoclave requer uma temperatura muito alta, que poderia interferir nas propriedades da guta-percha e alterar os componentes plásticos do dispositivo de infiltração, sendo esse método

desaconselhável. Portanto, optamos pela esterilização com óxido de etileno, que emprega uma temperatura de 56° C, como preconizado por inúmeros trabalhos^{16, 84, 89, 96}.

Diferentes meios de cultura podem ser utilizados em contato com a superfície apical do remanescente radicular, para a avaliação da infiltração bacteriana dos canais radiculares. Em nosso trabalho, usamos o caldo de BHI (brain heart infusion), conforme preconizado por diversos autores^{38, 79, 89}, por ser um meio de cultura que favorece o desenvolvimento da maioria dos microrganismos e permite uma melhor visualização da turvação do meio de cultura quando ocorre a infiltração do espécime.

Após a montagem final do dispositivo de infiltração, as amostras foram mantidas em estufa a 37°C, durante 4 dias^{79, 80} para confirmação da esterilidade do conjunto, procedimento também realizado por inúmeros autores^{77, 89}.

As bactérias utilizadas em testes de infiltração podem ser aeróbias²⁹ (utilizam o oxigênio para seu crescimento), anaeróbias^{4, 7, 38} (não utilizam o oxigênio para seu crescimento) ou facultativas^{50, 77, 100} (crescem tanto na presença quanto na ausência de oxigênio).

Os *Enterococcus faecalis* tem sido identificado atualmente, como a espécie mais comumente encontrada em canais radiculares que tiveram tratamento endodôntico convencional realizado devido à sua capacidade de resistirem aos agentes antimicrobianos utilizados para a irrigação dos canais radiculares^{67, 73, 81} e

ao curativo de hidróxido de cálcio, já que são capazes de sobreviver em pH extremamente alcalino^{53, 67, 81}.

Os *Enterococcus faecalis* apresentam a capacidade de sobreviver a longos períodos sem nutrientes, até que uma fonte nutricional adequada se torne disponível⁶⁷. Nesse trabalho utilizamos a bactéria *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, onde realizaremos trocas do meio de cultura para a substituição dos nutrientes das bactérias semanalmente^{56, 89}, reduzindo a frequência da manipulação dos dispositivos montados para o teste de infiltração e evitando a contaminação dos mesmos.

Na maioria dos trabalhos, o caldo de BHI antigo é substituído por um caldo de BHI inoculado com novos microorganismos, no entanto, acreditamos que a introdução de novos microorganismos a cada semana é uma condição extrema, quando comparada à situação clínica. Por esse motivo, optamos por trocar semanalmente apenas os nutrientes das bactérias (inserindo um caldo de BHI esterilizado) sem adicionarmos novos microorganismos ao teste.

Em nosso trabalho, constatamos a infiltração coronária através da turvação^{56, 89} do caldo de BHI, que de límpido e transparente, passou a ser turvo, indicando a passagem da bactéria através da obturação do canal radicular.

6.2 Discussão do Resultado

6.2.1- Avaliação Microbiológica

6.2.1.1- Grupos controles positivo e negativo

O grupo controle positivo, onde os canais radiculares foram obturados apenas com cones de guta-percha ou Resilon rolados à mão (sem cimento obturador e que tiveram a superfície radicular externa impermeabilizada com cola araldite, excluindo-se 1mm ao redor do forame apical), apresentou infiltração coronária bacteriana em todos os espécimes nas 24 horas, como nos trabalhos de Brosco¹⁶, Jacobson et al.³⁸, Saunders et al.⁷¹, Shipper et al.⁷⁷ e Siqueira Júnior et al.⁸⁰, evidenciando que canais radiculares mal obturados permitem uma rápida infiltração de bactérias entre o material obturador e as paredes do canal radicular, confirmando a importância dos cimentos obturadores na obtenção de um selamento adequado, como demonstrado em inúmeros estudos^{4, 42, 71, 90}.

No grupo controle negativo, o emprego do araldite como agente impermeabilizante mostrou-se eficaz, pois nenhum espécime desse grupo apresentou infiltração coronária durante o período experimental, estando esse resultado de acordo com aqueles encontrados nos estudos de Brosco¹⁶, Jacobson et al.³⁸, Saunders et al.⁷¹, Shipper et al.⁷⁷ e Siqueira Júnior et al.⁸⁰.

6.2.1.2- Amostra descartada durante o experimento

De um total de 100 remanescentes radiculares do grupo experimental, 1 espécime foi descartado durante o experimento. A amostra foi eliminada porque apresentou contaminação do meio de cultura durante a montagem do dispositivo de infiltração, constatada quando o mesmo foi submetido ao teste de esterilidade.

Timpawat et al.⁸⁹ também relataram em seu estudo que durante a montagem do dispositivo de infiltração houve a contaminação de 10 entre 75 amostras, as quais foram descartadas.

6.2.1.3- Grupos experimentais

Em qualquer estudo de infiltração é muito difícil comparar os resultados obtidos com os de outros estudos ou determinar o quanto as variáveis presentes em cada um deles influencia nos resultados³².

Nas pesquisas de infiltração bacteriana, as amostras são avaliadas diariamente durante diferentes períodos de tempo, dentre eles: sete⁴³, trinta^{26, 77, 89}, sessenta^{9, 24, 79} e noventa dias^{7, 38, 71, 96}. Neste trabalho, optamos por avaliar as amostras por um período de 90 dias, entretanto, com 64 dias todas elas apresentaram infiltração bacteriana, evidenciada através da turvação do caldo, comprovando que qualquer material torna-se susceptível à penetração de microrganismos devido à falta do selamento coronário⁷⁴.

Quando comparamos esse resultado com os publicados na literatura, verificamos que alguns autores também encontraram maiores índices de infiltração em canais radiculares obturados, em um curto período de tempo. Khayat et al.⁴² verificaram 100% de infiltração dos espécimes no período de 48 dias, Torabinejad et al.⁹⁰ verificaram 100% de infiltração no período de 76 dias. Outros autores terminaram seu período experimental com alguns espécimes resistentes à penetração bacteriana. Gilbert et al.³², encontrou 85% de infiltração em 84 dias e Barrieshi et al.⁷ 85% de infiltração em 90 dias.

Segundo Miletic et al.⁵⁶, em estudos dessa natureza, o número de microrganismos que causam turvação no meio não pode ser determinado. Em alguns espécimes, apenas um microrganismo pode ter infiltrado e causado turvação do meio de cultura, enquanto em outros, muitos microrganismos podem ter infiltrado e causado turvação.

Ao analisarmos um estudo de infiltração coronária, não só a porcentagem de espécimes que infiltraram é importante, mas também o tempo que levou para que as infiltrações ocorressem, sendo que quanto maior o tempo de infiltração, melhor o resultado, pois maior foi o tempo necessário para que os espécimes infiltrassem.

Em nosso estudo, dos 90 remanescentes radiculares do grupo experimental, 20 infiltraram nas primeiras 24 horas do teste de infiltração coronária (Tabela 3), no entanto, nossos resultados estão de acordo com os encontrados na literatura, já que vários autores^{8, 57} demonstraram em seus trabalhos que uma grande porcentagem dos seus espécimes apresentou infiltração coronária no início do período experimental.

Clinicamente, além da sensibilidade tátil do operador, o único instrumento que dispomos para avaliar a qualidade da obturação é a imagem radiográfica. Em nosso experimento, todas as amostras utilizadas no teste de infiltração coronária apresentavam radiograficamente obturações satisfatórias, isto é, bem condensadas e com ausência de falhas, entretanto, segundo Siqueira Júnior et al.⁸⁰, existe uma pobre correlação entre a qualidade da obturação do canal e a imagem na radiografia. Existem falhas e vazios menores na obturação que

freqüentemente não são detectadas através da imagem radiográfica, podendo ser responsáveis pela rápida contaminação de canais radiculares. Segundo alguns autores, isso ajuda a explicar o porquê de alguns espécimes serem totalmente contaminados nos primeiros dias de avaliação.

6.2.1.3.1- Avaliação dos cimentos endodônticos testados

As obturações deficientes têm sido responsabilizadas como a principal causa dos fracassos endodônticos. Em busca do selamento hermético, na fase de obturação, variadas técnicas e materiais foram desenvolvidos. Paralelamente ao aparecimento dessas inúmeras técnicas e materiais, seguiu-se a necessidade de avaliá-los, desencadeando uma infinidade de pesquisas, analisando tanto as propriedades biológicas como as propriedades físicas das obturações. Entre as propriedades físicas, a mais estudada é a capacidade seladora dessas obturações, já que o selamento do sistema de canais radiculares realizado o mais hermético possível é o objetivo principal da fase de obturação na terapia endodôntica^{15, 16, 26}.

O polímero da mamona é uma resina poliuretana extraída do óleo da mamona (*Ricinus comunis*). Esse material foi desenvolvido pelo Departamento de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros da Universidade de São Paulo em São Carlos-SP, chefiado pelo Prof^o Dr. Gilberto Chierici, em 1984. Recentemente esse biopolímero foi aprovado pela FDA (Federal Drugs Administration), tendo o seu emprego liberado em humanos.

Os trabalhos científicos sobre esse material, em sua maioria, tratam a respeito de propriedades químicas e biológicas^{18, 44}. Segundo o Professor Chierice, ele possui uma estrutura molecular compatível com a dos tecidos vivos e

segundo Ignácio et al.³⁷ (1996), apresenta a capacidade de indução de formação óssea.

Pelos bons resultados apresentados pelo polímero derivado do óleo de mamona, observados na literatura médica e em outras áreas da Odontologia, têm-se testado seu uso na Endodontia. Pavan⁵⁹ (1999) e Yunes¹⁰¹ (1999) encontraram os melhores resultados para o cimento à base de polímero da mamona em retrobturações submetidas à infiltração do corante azul de metileno. Bronzi et al.¹⁴ (1999) observaram que a capacidade de adesão da resina poliuretana derivada do óleo da mamona pode apresentar um elevado poder de adesão à estrutura dentinária, o que poderia explicar os melhores resultados obtidos por esse cimento em nosso estudo, assim como, a grande expansão de polimerização desse material, também justificaria os melhores resultados por ele obtidos.

Observando-se a Figura 3, é possível constatar que o cimento experimental à base do polímero da mamona (Polifil) apresentou maior resistência à infiltração bacteriana durante o período experimental, com resultados estatisticamente significantes em relação aos cimentos Endofill e AH Plus. Resultado semelhante foi obtido por Souza⁸³ (2004) que ao comparar os níveis de infiltração apical determinados pelos corantes azul de metileno a 2% e Rodamina B a 2%, em canais radiculares obturados com cimentos endodônticos de diferentes composições químicas, observou que o cimento Polifil apresentou capacidade seladora apical satisfatória determinada pelo corante Rodamina B a 2%.

Dessa forma, a partir dos resultados obtidos em nosso experimento em relação ao Polifil, associados aos resultados de biocompatibilidade demonstrados pela literatura, pode-se esperar a utilização futura desse cimento na obturação de canais radiculares, entretanto novos estudos devem ser feitos para se confirmar os dados obtidos, antes de uma extrapolação clínica.

Em nosso experimento os cimentos endodônticos que apresentaram a menor resistência à penetração da bactéria *Enterococcus faecalis* foram o AH Plus e o Endofill, com diferença significativa em relação ao Polifil, mas sem diferença estatisticamente significativa entre si (Figura 3).

O cimento AH Plus, segundo o fabricante, apresenta propriedades biológicas satisfatórias, por ter o formaldeído eliminado de sua formulação. É um cimento à base de resina epóxi-amina e segundo Zmener et al.¹⁰² (1997) e Miletic et al.⁵⁵ (1999), apresenta um rápido tempo de presa, podendo resultar em um descolamento precoce das paredes dentinárias, aumentando os níveis de infiltração desse material. Além disso, a capacidade seladora desse cimento pode ser afetada por outros fatores, como a presença de óleo de silicone e outros ingredientes na sua formulação, acarretando na formação de espaços na interface cimento-dentina, devido a uma pobre aderência à dentina úmida, favorecendo a penetração de fluidos e microrganismos. Ainda segundo esses autores, durante o endurecimento do material, o estresse de polimerização pode conduzir à formação de espaços no interior do cimento (falha coesiva), entre o cimento e a dentina ou entre o cimento e a guta-percha (falha adesiva). Esses fatores em conjunto nos ajudam a explicar o resultado desfavorável do AH Plus em nosso estudo, no

entanto, existem muitas variabilidades que influenciam nos resultados dos testes de infiltração in vitro, tais como: remoção da smear layer, técnica de obturação, cimento obturador, tipo de corante utilizado, método de avaliação, predicados técnicos do operador, entre outras⁸³. Essas variáveis explicam o porquê de inúmeros autores terem testado a capacidade seladora do AH Plus, encontrando uma maior resistência desse cimento endodôntico à infiltração em relação a outros materiais.

Camps, Pashley²¹(2003) questionaram a validade das metodologias de infiltração de corantes, pelo fato do corante azul de metileno (mais utilizado) ter um baixo peso molecular, penetrando em áreas, muitas vezes inacessíveis as bactérias. Ainda assim, compararam os cimentos AH Plus, Sealapex, Ketac-Endo e Kerr Pulp Canal Sealer sob 3 metodologias de análise, sendo uma delas a infiltração dada pela marcação do corante azul de metileno a 2%. Nas outras 2 metodologias, o cimento Sealapex infiltrou mais do que os demais cimentos testados, entretanto, os autores não levaram em consideração o fato de que pode ter havido a descoloração do azul de metileno quando em contato com o Sealapex devido à presença do óxido de cálcio em sua composição, o que provavelmente determinou os menores níveis de infiltração desse cimento nesta metodologia. Não houve diferença estatisticamente significante entre os cimentos AH Plus, Ketac-Endo e Kerr Pulp Canal Sealer, uma vez que todos apresentaram resultados satisfatórios em relação à capacidade seladora em qualquer uma das 3 metodologias aplicadas.

Utilizando outro tipo de metodologia para análise da infiltração e encontrando resultados diferentes aos nossos em relação ao cimento AH Plus, Da Silva Neto et al.²⁶ (2007) realizaram o método de transporte de fluido, proposto por Wu et al.⁹⁹ que consiste em um tubo plástico, que é adaptado na porção coronária da raiz e preenchido com água. Um outro tubo de plástico é utilizado, sendo que uma das suas extremidades fica em contato com a região apical da raiz e a outra com um tubo capilar (tubo de vidro de diâmetro reduzido). O tubo capilar é preenchido com água com a finalidade de forçar a sua passagem através dos vazios da obturação. A infiltração é determinada através do movimento da bolha de ar dentro do capilar, indicando a quantidade de água que atravessou a obturação do canal radicular⁹⁹. Dessa forma foi mensurada a infiltração de 4 cimentos endodônticos resinosos: AH 26, AH Plus, EndoREZ e um cimento experimental resinoso à base de hidróxido de cálcio, MBP. A infiltração foi avaliada após 15, 30 e 60 dias. Os resultados mostraram que os canais radiculares obturados com AH Plus e com o cimento MBP apresentaram os menores valores de infiltração aos 15 dias. Aos 30 dias, o cimento AH 26 apresentou maior infiltração com relação aos outros cimentos. O AH Plus e o cimento MBP apresentaram os menores valores de infiltração aos 60 dias, com diferença estatisticamente significante comparados ao cimento EndoREZ.

Miletic et al.⁵⁶ (2002) realizaram um estudo, cuja metodologia avaliou a infiltração bacteriana e fúngica de maneira semelhante à realizada em nosso estudo. Os cimentos endodônticos testados foram o AH Plus e o AH 26. Após a confecção do preparo biomecânico e obturação dos espécimes, os remanescentes

radiculares impermeabilizados foram colocados em eppendorfs e todo o conjunto foi inserido a frascos de penicilina contendo o meio de cultura esterilizado. As bactérias utilizadas no experimento foram: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Prevotella melaninogenica* e *Lactobacillus acidophilus*. Foi testada também a *Candida albicans* (fungo). A análise da infiltração, detectada através da turvação do caldo foi feita por 90 dias. Os autores concluíram que nenhum dos 2 cimentos evitou a infiltração dos microrganismos durante o período experimental e que não houve diferença estatisticamente significativa entre os 2 materiais testados. Os resultados obtidos nesse experimento corroboram com aqueles por nós encontrados.

Empregando uma metodologia semelhante à usada em nosso experimento, Saleh et al.⁶⁹ (2008) avaliaram a penetração bacteriana (*Enterococcus faecalis*) através dos canais radiculares obturados com os cimentos AH Plus, RealSeal e Apexit na presença ou ausência da smear layer. A análise da infiltração foi diariamente observada por 90 dias. Os resultados mostraram que na presença do barro dentinário, RealSeal e Apexit infiltraram mais lentamente do que na sua ausência. Já o AH Plus, infiltrou menos nos espécimes onde a smear layer foi removida. Esse resultado é divergente ao encontrado em nosso trabalho, onde o AH Plus apresentou baixa resistência à penetração bacteriana e em todos os espécimes avaliados, houve prévia remoção do barro dentinário após a confecção do preparo biomecânico. Os autores concluíram que fatores como a remoção da smear layer pode influenciar nos resultados.

O Endofill é um cimento endodôntico à base de óxido de zinco e eugenol, o qual foi avaliado em nosso experimento e que apresentou, assim como o cimento AH Plus, baixa resistência à infiltração do microrganismo, não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles (Figura 3).

Kazemi et al.⁴¹ (1993) realizaram um estudo, analisando a alteração dimensional, solubilidade e desintegração de diferentes cimentos endodônticos, onde verificaram grande perda dessas propriedades em cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, de forma que a dissolução se iniciava desde as 3 primeiras horas de presa do material estendendo-se até 6 meses. Como em nossa pesquisa a colocação do inócuo bacteriano sobre os remanescentes radiculares foi feita umas 3 semanas após a obturação dos canais, acredita-se que parte do cimento tenha se solubilizado, causando falhas que permitiram a penetração do *Enterococcus faecalis* e turvação do caldo.

Pesce et al.⁶⁰ (2007) investigaram o selamento apical propiciado pelos cimentos endodônticos AH Plus e Endofill decorridas 24, 48 e 72 horas do término do tratamento endodôntico. A técnica de obturação empregada foi a condensação lateral ativa e a análise da infiltração foi feita a partir do uso do corante azul de metileno a 2%. Os resultados mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os 2 materiais testados, estando em discordância de nossos achados. Segundo Pesce et al.⁶⁰ (2007) o AH Plus apresentou menor infiltração do corante em todos os períodos analisados, o que segundo os autores, contraria a hipótese de que o óxido de zinco presente no cimento Endofill pode reagir com o azul de metileno dando um falso resultado.

Bonetti Filho et al.¹³ (1997) avaliaram a capacidade seladora in vitro na região cervical em pré-molares humanos, por meio da infiltração do corante azul de metileno a 2%. Os canais radiculares foram instrumentados e obturados com Endofill e Sealapex. Os espécimes foram divididos em 3 grupos: Grupo I, os dentes foram submersos no corante imediatamente após a obturação. No Grupo II, após a armazenagem em água por 30 dias e no Grupo III, após a armazenagem em água por 30 dias, seguida da remoção da obturação da região cervical. Os autores concluíram que independente do período imediato ou de 30 dias com ou sem a remoção do terço cervical da obturação, o cimento Endofill, permitiu estatisticamente uma infiltração média maior que o cimento Sealapex, estando em acordo com nossos resultados, apesar de termos utilizado outro tipo de metodologia.

Com o propósito de avaliar o efeito que os cimentos endodônticos AH Plus e Endofill exercem sobre a penetração de endotoxinas, Williamson et al.⁹⁵ (2005) realizaram um estudo, utilizando bactérias anaeróbias estritas. As raízes previamente instrumentadas e obturadas foram colocadas em uma câmara de anaerobiose. A mensuração da endotoxina foi feita aos 0, 1, 7, 14 e 21 dias. Os resultados mostraram que o cimento Endofill foi quem mais inibiu a penetração das endotoxinas, com diferença estatisticamente significativa em relação ao AH Plus. Os autores acreditam que o óxido de zinco presente no Endofill tenha sido o principal responsável por essa inibição. Considerando que em nosso experimento, não houve diferença estatisticamente relevante entre esses 2 materiais, concluímos que nossos resultados foram diferentes aos encontrados por Williamson et al.⁹⁵

(2005), entretanto, devemos levar em conta o fato de que trabalhamos com outro tipo de bactéria (*Enterococcus faecalis*- anaeróbios facultativos) e avaliamos a capacidade seladora dos cimentos e não a atividade antibacteriana.

Em nosso estudo, foi avaliado o selamento proporcionado pelos cimentos endodônticos resinosos Epiphany e Acroseal, os quais apresentaram resultados intermediários e equivalentes, mas sem diferença significativa em relação aos outros cimentos.

Para se realizar uma convencional obturação dos canais radiculares, utiliza-se um cone de guta-percha associado a um cimento, o que segundo alguns autores, não propicia adesão à estrutura dental, permitindo um espaço microscópico entre esta estrutura e o cimento, tornando duvidoso o prognóstico de uma obturação satisfatória^{34, 79, 89, 94}.

Outros autores afirmam que a obturação contendo guta-percha é prejudicada, por ela não aderir aos cimentos ou a dentina, devido à falta de união química entre o componente poliisopreno da guta percha e cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio, resina epóxica, ionômero de vidro e silicone. Desta forma, os pesquisadores procuram eliminar a microinfiltração reforçando a estrutura dental coronária e radicular ao criar um monobloco entre o substrato dental e os materiais restauradores. Assim, a introdução do Resilon como material obturador alternativo oferece uma promessa de adesão à dentina radicular. Por esse polímero conter uma mistura de dimetacrilatos, os fabricantes preconizam que deve ocorrer boa adesão aos cimentos à base de metacrilatos, justificando assim o uso do cimento endodôntico Epiphany^{77, 87}.

Baumgartner et al.⁹ (2007) desenvolveram um estudo para avaliar a infiltração da bactéria *Enterococcus faecalis* através de pré-molares humanos obturados ou com cone de guta-percha e cimento endodôntico AH Plus ou com cone Resilon e cimento Epiphany, utilizando a técnica de condensação lateral ativa para a obturação dos canais. A avaliação da infiltração bacteriana foi realizada diariamente por 50 dias. Os resultados mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, nas condições ensaiadas. Os autores concluíram que não há vantagem aparente em se usar o sistema Epiphany/Resilon em relação à guta-percha/AH Plus, o que corrobora em parte nossos resultados, pois apesar do cimento Epiphany constituir um grupo intermediário com relação à resistência à infiltração, estatisticamente não houve diferença entre esse cimento e o AH Plus, assim como entre esse cimento e os outros materiais avaliados.

Nossos achados também estão em acordo com o estudo realizado por Kaya et al.⁴⁰ (2007). Os autores compararam a capacidade de selamento da guta-percha utilizada com o cimento AH Plus e do cone Resilon empregado com o cimento Epiphany através de um modelo de penetração de glicose (aparato similar ao modelo bacteriano com a diferença que se observa a passagem da glicose ao invés do microrganismo). Os resultados mostraram que nenhum dos 2 sistemas preveniu a infiltração da glicose e que não houve diferença significativa entre eles.

O selamento apical promovido pelo cimento resinoso Epiphany utilizado juntamente com os cones Resilon foi comparado ao do cimento

endodôntico AH Plus usado com os cones de guta-percha, em um estudo in vitro, realizado por Tay et al.⁸⁷ (2005). Vinte e quatro dentes humanos foram instrumentados e após a instrumentação, os canais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos de 10 dentes cada, sendo os espécimes do 1º grupo obturados com Resilon/Epiphany e os do 2º grupo com cone de guta-percha e cimento endodôntico AH Plus. Os resultados foram obtidos a partir da análise da infiltração realizada com o auxílio de um microscópio eletrônico de transmissão. Os autores verificaram a presença de espaços vazios ao longo da interface dentina/cimento de ambos os grupos, levando-os a concluir que nenhum dos materiais testados promoveu um selamento apical completo. Apesar dessa metodologia ser diferente da que usamos em nosso experimento, os resultados por eles encontrados também estão de acordo com os nossos.

Utilizando o corante azul de metileno a 2%, Bodrumlu, Tunga¹¹ (2007) avaliaram a infiltração através de canais radiculares obturados com o sistema Epiphany/Resilon ou com guta-percha e AH Plus. A técnica de obturação empregada foi a condensação lateral ativa e a infiltração do corante foi observada nos terços cervical, médio e apical dos dentes. Diferente de nossos resultados, os autores concluíram que o sistema Epiphany/Resilon foi muito superior em propiciar o selamento do que a guta percha/AH Plus.

Zmener et al.¹⁰³ (2008) avaliaram a importância da umidade na dentina radicular em relação ao selamento com o uso de cimentos endodônticos resinosos. Os materiais testados foram o EndoRez, o sistema Resilon/Epiphany e o cimento à base de óxido de zinco e eugenol (Endofill). O método de análise da

infiltração foi feito com o uso do azul de metileno a 2%. Foram avaliados os diferentes níveis de umidade (do canal radicular molhado ao completamente seco). Os resultados mostraram que quanto mais seco o canal, menor a infiltração do corante. Dessa forma, os cimentos que apresentaram a menor infiltração foram os resinosos (Epiphany e EndoREZ), com diferença significativa em relação ao Endofill. Em nosso experimento, secamos bem todos os canais radiculares com pontas de papel absorvente antes de realizarmos a obturação e não houve diferença estatisticamente significativa entre o Epiphany e o Endofill em relação à resistência à infiltração bacteriana, apesar do Epiphany constituir o grupo intermediário.

O Acroseal é um cimento endodôntico que assim como o cimento Epiphany, contém hidróxido de cálcio em sua composição. Em nossa pesquisa ambos apresentaram resistência intermediária em relação à infiltração bacteriana, sem diferença estatisticamente significativa em relação aos outros grupos.

O hidróxido de cálcio tem sido usado na terapia endodôntica há muito tempo em virtude de sua atividade antibacteriana, habilidade em induzir a formação de tecido duro ao ser colocado no interior dos canais radiculares, além de ter um pH alcalino (12,5) e se dissociar em íons cálcio e hidroxila, tornando o meio inadequado à proliferação bacteriana³³.

Eldeniz et al.²⁸ avaliaram a liberação de íons cálcio e o pH de 3 cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio (Acroseal, Apexit e Sealapex) assim como analisaram o tempo necessário para matar os microrganismos (entre eles o *Enterococcus faecalis*). Os autores concluíram que o

cimento Acroseal apresentou maior liberação de íons cálcio e maior pH que o Apexit e menor liberação de íons cálcio que o Sealapex. Com relação à capacidade de matar os microrganismos, apresentou resultados intermediários. Em nosso estudo, o Acroseal também constituiu grupo intermediário em relação à resistência à infiltração do *Enterococcus faecalis*. Não foi o objetivo da nossa pesquisa avaliar a atividade antibacteriana dos cimentos endodônticos, ainda assim, devemos considerar que apesar do hidróxido de cálcio tornar o meio inadequado à proliferação bacteriana, o *Enterococcus faecalis* é uma bactéria resistente a ele^{1, 61, 67, 81}.

O Acroseal assim como o cimento AH Plus possui resina epóxica em sua composição. Dessa forma, pode ter ocorrido durante seu endurecimento, o estresse de polimerização, conduzindo à formação de espaços no interior do cimento, entre o cimento e a dentina ou entre o cimento e a guta-percha, facilitando a penetração bacteriana. Isso pode justificar porque não houve diferença estatisticamente significativa entre esses 2 cimentos. Não há nenhum outro trabalho na literatura avaliando a capacidade seladora do Acroseal. Sobre esse material, apenas sabemos que é biocompatível, segundo os achados de Gambarani et al.³¹ (2003), a partir de um estudo feito in vitro avaliando a citotoxicidade desse material em culturas celulares, além de ter uma espessura adequada quando manipulado à temperatura ambiente, de acordo com a pesquisa realizada por Testarelli et al.⁸⁸ (2003), entretanto, novos estudos devem ser feitos para que se possa avaliar a sua resistência à infiltração bacteriana e assim possamos compará-lo com os outros cimentos endodônticos.

Apesar dos estudos experimentais não reproduzirem exatamente as mesmas condições clínicas e o relacionamento entre as medidas de infiltração in vivo e in vitro ainda não ser bem estabelecido, o emprego dessa metodologia nos permitiu verificar diferenças entre os cimentos endodônticos testados, gerando informações adicionais a respeito da capacidade seladora desses materiais, que devem ser sempre somadas aos resultados de outras pesquisas para a tomada da decisão acerca da utilização clínica ou não deste ou daquele material, entretanto, o completo entendimento desse comportamento somente pode ser obtido através da realização de mais pesquisas com esse objetivo.

7 Conclusão

Considerando a metodologia empregada e os resultados desse estudo, podemos concluir que:

1. Os cimentos AH Plus e Endofil apresentaram resistência à infiltração bacteriana significativamente menor do que o Polifil, mas estatisticamente equivalentes entre si.

2. Os cimentos Epiphany e Acroseal deram resultados intermediários e equivalentes, mas sem diferença estatisticamente significativa em relação aos outros cimentos.

3. Independente do cimento endodôntico utilizado, a contaminação do canal radicular pode ocorrer após um curto período de tempo de exposição às bactérias.

4. Por melhor que seja a capacidade seladora do cimento endodôntico, ele certamente se tornará susceptível à penetração de microrganismos quando houver falta ou deficiência do selamento coronário.

5. Nenhum dos cimentos endodônticos testados preveniu a infiltração bacteriana (*Enterococcus faecalis*) durante o período experimental.

8 Referências*

1. Adib V, Spratt D, Ng YL, Gulabivala K. Cultivable microbial flora associated with persistent periapical disease and coronal leakage after root canal treatment: a preliminary study. *Int Endod J.* 2004; 37: 542-51.
2. Al-Dewani N, Hayes SJ, Dummer PMH. Comparison of laterally condensed and low-temperature thermoplasticized gutta-percha root fillings. *J Endod.* 2000; 26: 733-8.
3. Al-Khatat N, Kunzelmann KH, Hickel R. Apical leakage of new root canal sealers. *J Dent Res.* 1995; 74: 945-7.
4. Alves J, Walton R, Drake D. Coronal leakage: endotoxin penetration from mixed bacterial communities through obturated, post-prepared root canals. *J Endod.* 1998; 24: 87-91.
5. Balto H. An assessment of microbial coronal leakage of temporary filling materials in endodontically treated teeth. *J Endod.* 2002; 28: 762-4.
6. Barbosa SV, Araki K, Spangberg LSW. Citotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1993; 75: 357-61.
7. 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: 310-4.

*De acordo com a norma Vancouver. Disponível no site:
http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

8. Barthel CR, Zaritzki FF, Raab WH, Zimmer S. Bacterial leakage in roots filled with different medicaments and sealed with cavif. J Endod. 2006; 32: 127-9.
9. 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: 45-7.
10. Berbert A, Bramante CM, Bernardinelli N. Endodontia prática. 2ª ed. São Paulo: Sarvier; 1980.
11. Bodrumlu E, Tunga U. Coronal sealing ability of a new root canal filling material. J Canadian Dent Assoc. 2007; 73: 623-6.
12. Bonetti Filho I, Tanomaru Filho M, Leonardo RT. Avaliação “in vitro” da capacidade seladora da técnica de obturação Microseal através da infiltração apical do corante azul de metileno a 2%. Rev Bras Odontol. 2000; 57: 80-3.
13. Bonetti Filho I, Tanomaru Filho M, Leonardo RT. Avaliação “in vitro” da capacidade seladora na região cervical de dentes obturados com Sealapex e Fill canal. Influência do tempo de armazenagem e da remoção parcial da obturação. Rev. Odontol UNESP. 1997; 26: 97-107.
14. Bronzi ES, Saad JRC, Motisuki C. Estudo in vitro da resistência ao teste de cisalhamento de restaurações do polímero vegetal (óleo de mamona) com sistemas de adesão e cimento de ionômero de vidro. Odonto 2000. 1999; 3: 30-6.

15. Brosco VH. Avaliação “in vitro” do selamento apical dos canais radiculares em função de diferentes técnicas de obturação [dissertação de mestrado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.
16. Brosco VH. Avaliação in vitro da infiltração bacteriana em canais radiculares obturados por diferentes técnicas [tese de doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.
17. Burrow M, Tagami J, Negishi T, Nikaido T, Hosoda H. Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems. *J Dent Res.* 1994; 73: 522-8.
18. Calixto RFE, Ferreira CM. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. *Pesq Odontol Bras* 2001; 15: 257-62.
19. Callahan JR. Rosin solution of the sealing of the dentinal tubuli and as an adjuvant in the filling of root canals. *J Allied Dent Soc* 1914; 9: 53- 63.
20. Camargo CH, Siviero M, Camargo SE, de Oliveira SH, Carvalho CA, Valera MC. Topographical, diametral and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod.* 2007; 33: 422-6.
21. Camps J, Pashley D. Reliability of the dye penetration studies. *J Endod.* 2003; 29: 592-4.
22. Carvalho CF. Influência da radiação ou não com lasers na permeabilidade marginal apical de dois cimentos endodônticos AH Plus e EndoRez [tese de doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

23. Chailertvanitkul P, Saunders WP, Mackenzie D. Coronal leakage of obturated root canals after long-term storage using a polymicrobial marker. *J Endod.* 1997; 23: 610-3.
24. Clark-Holke D, Drake D, Walton R, Rivera E, Guthmiller JM. Bacterial penetration through canals of endodontically treated teeth in the presence or absence of the smear layer. *J Dent.* 2003; 31: 275-81.
25. Cohen S, Burns RC. *Caminhos da polpa.* 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
26. Da Silva Neto UX, de Moraes IG, Westphalen VP, Menezes R, Carneiro E, Fariniuk LF. Leakage of 4 resin-based root-canal sealers used with a single-cone technique. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104: 53-7.
27. Davalou S, Gutmann JL, Nunn MH. Assessment of apical and coronal root canals seals using contemporary endodontic obturation and restorative materials and techniques. *Int Endod J.* 1999; 32: 388- 96.
28. Eldeniz AU, Erdemir A, Kurtoglu F, Esener T. Evaluation of pH and calcium ion release of Acroseal sealer in comparison with Apexit and Sealapex sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103: 86-91.
29. Ferreira CM, Calixto RFE. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J.* 2002; 13: 118-22.

30. Figueiredo JAP de, Estrela C. Obturação do canal radicular. In: Estrela C, Figueiredo JAP de. Endodontia: princípios biológicos e mecânicos. 4º ed. São Paulo: Artes Médicas; 1999.
31. Gambarini G, Andreasi-Bassi M, Bolognini G, Testarelli L, Nocca G, Ceccarelli L, et al. Citotoxicity of a new endodontic filling material. Aust Endod J. 2003; 29: 17-9.
32. Gilbert SD, Witherspoon DE, Berry CW. Coronal leakage following three obturation techniques. Int Endod J. 2001; 34: 293-9.
33. Gomes BP, Souza SF, Ferraz C C, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro. Int Endod J. 2003; 36: 267-75.
34. Hilton TJ. Can modern restorative procedures and materials reliably seal cavities? In vitro investigations. Part 1. Am J Dent. 2002; 15: 198–210.
35. Holland R, Camargo CHR. Avaliação da eficiência do selamento marginal de obturações de canal- influência de variáveis introduzidas no método da condensação lateral. Rev Gauch Odontol. 1975; 23: 247-252.
36. Homme GM, Coppens CR, De Moor RJ. Periapical health related to the quality of coronal restorations and root fillings. Int Endod J. 2002; 35: 68-9.
37. Ignácio H, Mazzer N, Barbieri CH, Chierice G. Estudos sobre a aplicabilidade da poliuretana derivada da mamona. Resenha Ort. 1996; 2: 10-2.

38. Jacobson HL, Xia T, Baumgartner JC, Marshall JG, Beeler WJ. Microbial leakage evaluation of the continuous wave of condensation. *J Endod.* 2002; 28: 269-71.
39. Jurcak JJ, Weller RN, Kulild JC, Donley DL. In vitro intracanal temperatures produced during warm lateral condensation of gutta-percha. *J Endod.* 1992; 18: 1-3.
40. Kaya BU, Kececi AD, Belli S. Evaluation of the sealing ability of gutta-percha and thermoplastic synthetic polymer-based systems along the root canals through the glucose penetration model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104: 66-73.
41. Kazemi RB, Safavi KE, Spanberg LS. Dimensional changes of endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod.* 1993; 76: 766-71.
42. Khayat A, Lee SJ, Torabinejad M. Human saliva penetration of coronally unsealed obtured root canals. *J Endod.* 1993; 19: 458-61.
43. Kos WL, Aulozzi DP, Gerstein HA. Comparative bacterial microleakage study of retrofilling materials. *J Endod.* 1982; 8: 355-8.
44. Leal JM, Holland R, Esberard RM. Sealapex, C.R.C.S., Fill canal e N-Rickert. Estudo da biocompatibilidade em tecido conjuntivo subcutâneo de rato. *Odontol. Clin.* 1988; 2: 7-14.
45. Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares, princípios técnicos e biológicos. 2ªed. São Paulo: Artes Médicas; 2005.

46. Lima RKP. Sistema adesivo na obturação de canais radiculares: biocompatibilidade e infiltração coronária (reparação apical e periapical em dentes de cães) [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2006.
47. Love RM. Enterococcus faecalis- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001; 34: 399-405.
48. Madison S, Zakariasen KL. Linear and volumetric analysis of apical leakage in teeth prepared for posts. *J Endod.* 1984; 10: 422-7.
49. Maltezos C, Glickman GN, Ezzo P, He J. Comparison of the sealing of Resilon, Pro Root MTA, and Super-EBA as root-end filling materials: a bacterial leakage study. *J Endod.* 2006; 32: 324-7.
50. Mangin C, Yesilsoy C, Nissan R, Stevens R. The comparative sealing ability of hydroxyapatite cement, mineral trioxide aggregate, and super ethoxybenzoic acid as root-end filling materials. *J Endod.* 2003; 29: 261-4.
51. Mavec JC, McClanahan SB, Minah GE, Johnson JD, Blundell RE Jr. Effects of an intracanal glass ionomer barrier on coronal microleakage in teeth with post space. *J Endod.* 2006; 32: 120-2.
52. Mazotti D. Avaliação comparativa “in vitro” da capacidade de preenchimento do sistema de canais radiculares de diferentes técnicas de obturação [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2001.

53. Mchugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod.* 2004; 30: 218-9.
54. Mcrobert AS, Lumley PJ. An in vitro investigation of coronal leakage with three gutta-percha backfilling techniques. *Int Endod J.* 1997; 30: 413-7.
55. Miletic I, Anic I, Pezel J-Ribaric S, Jukic S. Leakage of five root canal sealers. *Int Endod J.* 1999; 32: 415-8.
56. Miletic I, Prpić-Mehičić 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.* 2002; 35: 428-32.
57. Montellano AM, Schwartz SA, Beeson T J. Contamination of tooth-colored mineral trioxide aggregate used as a root-end filling material: a bacterial leakage study. *J Endod.* 2006; 32: 452-5.
58. Oliver CM, Abbott PV. Correlation between clinical success and apical dye penetration. *Int Endod J.* 2001; 34: 637-44.
59. Pavan NNO. Análise da infiltração marginal em obturações retrógradas realizadas com polímero da mamona, epóxico experimental, cimento de óxido de zinco e eugenol reforçado (Super EBA) e ionômero de vidro (Fuji II LC) [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1999.
60. Pesce ALC, López SG, Rodriguez MPG. Effect of post space preparation on apical seal: influence of time interval and sealer. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007; 12: 464-8.

61. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003; 36: p.1-11.
62. Puricelli E, Calixto RFE, Ferreira CM. Estudo histológico do polímero poliuretano da mamona implantado no ângulo mandibular de ratos. *Rev Fac Odontol Porto Alegre.* 1999; 40: 37-40.
63. Ravanshad S, Torabinejad M. Coronal dye penetration of the apical filling materials after post space preparation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1992; 74: 644-7.
64. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of root filling and the coronal restoration. *Int Endod J.* 1995; 28: 12-8.
65. Reeves GW, Fitchie JG, Hembree JH Jr, Puckett AD. Microleakage of new agent bonding systems using human and bovine teeth. *Oper Dent.* 1995; 20: 230-5.
66. Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. Mineral Trioxide Aggregate material used in endodontic treatment. A review of the literature. *Dental Mater.* 2007; 12: 1-16.
67. Rôças IN, Siqueira Júnior JF, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004; 30: 315-20.

68. Roggendorf MJ, Ebert J, Dennerlein R, Franferberger R, Petschel A. Coronal and apical microleakage of root canal fillings with/without gutta-percha. *J Dent Res.* 2004; 10: 65-8.
69. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. Bacterial penetration along different root canal filling materials in the presence or absence of smear layer. *Int Endod J.* 2008; 41: 32-40.
70. Sauáia TS, Gomes BP, Pinheiro ET, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microleakage evaluation of intraorifice sealing materials in endodontically treated teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 102: 242-6.
71. Saunders JL, Eleazer PD, Zhang P, Michalek S. Effect of a separated instrument on bacterial penetration of obturated root canals. *J Endod.* 2004; 30: 177-9.
72. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. *J Endod.* 2006; 32: 281-90.
73. Sedgley CM, Lennan SL, Appelbe OK. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo. *Int Endod J.* 2005; 38: 735-42.
74. Segura-Egea JJ, Jiménez-Pinzón AA, Poyato-Ferrera M, Velasco-Ortega E, Ríos-Santos JV. Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in an adult spanish population. *Int Endod J.* 2004; 37: 525-30.
75. Sengun A, Hasan O. Apical leakage of resin based root canal sealers with a new computerized fluid filtration meter. *J Endod.* 2005; 31: 886-90.

76. Sevimay S, Kalayci A. Evaluation of apical sealing ability and adaptation to dentine of two resin-based sealers. *J Oral Rehabil.* 2005; 32: 105-10.
77. Shipper G, Orstavik D, Teixeira FB, Trope M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material. *J Endod.* 2004; 30: 342-7.
78. Silva MJA, Puricelli E. Estudo do comportamento do tecido ósseo frente ao implante do polímero de mamona em raios de coelhos, pela análise quantitativa das radiopacidades nas imagens radiográficas convencionais. *Rev Fac Odontol Bauru.* 1997; 5: 69-77.
79. Siqueira Júnior JF, Rôças IN, Lopes HP, de Uzeda M. Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. *J Endod.* 1999; 25: 14-6.
80. Siqueira Júnior JF, Rôças IN, Favieri A, Abad EC, Castro AJ, Gahyva SM. Bacterial leakage in coronally unsealed canals obturated with 3 different techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000; 90: 647-50.
81. Siqueira Júnior JF, Rôças IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. *J Endod.* 2002; 28: 168-72.
82. Soares IJ, Goldberg F. Obturação do canal radicular. In: Soares IJ, Goldberg F. *Endodontia: técnica e fundamentos.* 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2001.

83. Souza EM. Influência dos corantes Azul de Metileno a 2% e Rodamina B a 2% na determinação da capacidade seladora apical de diferentes cimentos endodônticos [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2004.
84. Souza PARS. Estudo “in vitro” da infiltração bacteriana em obturações radiculares de dentes bovinos: influência do uso do EDTA a 17% e do laser Er: YAG e Nd:YAG [tese de doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.
85. 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: 93-8.
86. Swanson K, Madison S. An evaluation of coronal microleakage in endodontically treated teeth. Part I. Time periods. *J Endod.* 1987; 13: 56- 9.
87. Tay FR, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, Pashley DH, Mak YF, Lai CN, et al. Ultrastructural evaluation of the apical seal in roots filled with a polycaprolactone-based root canal filling material. *J Endod.* 2005; 31: 514-9.
88. Testarelli L, Andreasi M, Gambarini G. In vitro evaluation of five root canal sealers. *Minerva Stomatol.* 2003; 52: 19-24.
89. Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan WR. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. *J Endod.* 2001; 27: 36-9.

90. Torabinejad M, Ung B, Kettering JD. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod.* 1990; 16: 566- 9.
91. Trevizan M, Silva Neto UX, Westphalen VPD, Deonízio MAD, Ignacio SA. Análise “in vitro” do selamento apical em função de diferentes cimentos endodônticos. *Pesq Odontol Bras.* 2003; 17: 2-3.
92. Tronstad L, Asbjørnsen K, Døving L, Pedersen I, Eriksen HM. Influence of coronal restorations on the periapical health of endodontically treated teeth. *Endod Dent Traumatol.* 2000; 16: 218-21.
93. Valera MC, Bernardinelli N, Berbert A. Avaliação da infiltração marginal de corante, via coronária, em função do momento, do nível de corte das obturações dos canais radiculares e do armazenamento em saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo.* 1994; 8: 57- 64.
94. Weine FS. Preenchimento do canal com materiais semi-sólidos. In: Weine FS. *Tratamento endodôntico.* 5ª ed. São Paulo: Ed. Santos; 1998.
95. Williamson AE, Dawson DV, Drake DR, Walton RE, Rivera EM. Effect of root canal filling/sealer systems on apical endotoxin penetration: a coronal leakage evaluation. *J Endod.* 2005; 31: 599-604.
96. Wolanek GA, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, Volkman KR. In vitro bacterial penetration of endodontically treated teeth coronally sealed with a dentin bonding agent. *J Endod.* 2001; 27: 354-7.
97. Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR. Leakage of AH26 and Ketac-Endo used with injected warm gutta-percha. *J Endod.* 1997; 23: 331–6.

98. Wu MK, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Descoloration of 1% methylene blue solution in contact with dental filling materials. *J Dent.* 1998; 26: 585-9.
99. Wu MK, Van Der Sluis LWM, Wesselink P R. Fluid transport along gutta-percha backfills with and without sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 97: 257-62.
100. Yücel AC, Güler E, Güler AU, Ertaş E. Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. *J Endod.* 2006; 32: 890-3.
101. Yunes JRM. Avaliação in vitro da infiltração marginal em retrobturações utilizando diferentes materiais obturadores [dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da USP; 1999.
102. Zmener O, Spilberg C, Lamberghini F, Rucci M. Sealing properties of a new epoxy resin-based root canal sealer. *Int Endod J.* 1997; 30: 332-4.
103. Zmener O, Pamejjer CH, Serrano SA, Vidueira M, Macchi RL. 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: 76-9.

Anexos

Tabela A1- Cimentos empregados nesse estudo conforme marca comercial, fabricante e especificação do produto.

Marca	Fabricante	Especificação
AH Plus	DENTSPLY, De-trey, Germany	Pasta A: Resina epóxica, tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, pigmentos de óxido de ferro. Pasta B: Aminas, tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, óleo de silicone.
Endofill	DENTSPLY,HERO Petrópolis-RJ,Brasil	Pó: Óxido de zinco, resina hidrogenada, subcarbonato de bismuto, sulfato de bário e borato de sódio. Líquido: Eugenol e óleo de amêndoas.
Epiphany	PENTRON CLINICAL TECHNOLOGIES,EUA	Resilon: Polímero de poliéster (Poliprolactona), resina metacrilato difuncional, vidro bioativo, oxiclreto de bismuto, sulfato de bário, corantes. Primer Epiphany: Solução de monômero ácido (HEMA) em água, AMPS e solução de monômeros hidrofílicos, iniciador de polimerização. Cimento Epiphany: Resinas UDMA, PEGDMA, ESPADMA, BISGMA e metacrilatos, vidros barioborosilicato tratado com silano, sulfato de bário, sílica, hidróxido de cálcio, oxiclreto de bismuto com aminas, peróxidos, iniciador de fotopolimerização, estabilizadores e pigmentos. Thinning Resin: Resinas EBPADMA com iniciador de fotopolimerização, aminas, estabilizadores, red #40
Acroseal	SEPTODONT Barueri-SP, Brasil	Base: Hidróxido de cálcio, DGEBA-resina epóxica , radiopacificador. Catalizador: Methenamine, enoxolona, radiopacificador.
Polifil	ARARAQUARA POLÍMEROS QUÍMICOS Ltda Araraquara,Brasil	2 ampolas individuais que consistem de um polímero vegetal extraído de <i>Ricinus communis</i> (óleo de mamona), carbonato de cálcio, um pré-polímero e óxido de zinco e eugenol pró-análise.

Tabela A2- Valores p do teste de Dunn para comparações múltiplas dos cimentos obturadores quanto ao tempo de resistência à infiltração bacteriana

Cimento	Cimento				
	Epiphany	AH Plus	Acroseal	Polifil	Endofil
Epiphany		0,4381	1,0000	1,0000	1,0000
AH Plus	0,4381		0,1887	0,0031	1,0000
Acroseal	1,0000	0,1887		1,0000	0,5296
Polifil	1,0000	0,0031	1,0000		0,0139
Endofil	1,0000	1,0000	0,5296	0,0139	

p<0,05 indica diferença significativa entre os dois cimentos

Autorizo a reprodução deste trabalho.

Araraquara, 24 de março de 2008.

Cláudia Ramos Pinheiro