ANDRÉ LUIZ DA COSTA MICHELOTTO

ANÁLISE DA CAPACIDADE SELADORA DE MATERIAIS OBTURADORES ENDODÔNTICOS UTILIZANDO A TÉCNICA DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

São Paulo

2009

André Luiz da Costa Michelotto

Análise da capacidade seladora de materiais obturadores endodônticos utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas

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

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana

São Paulo

2009

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

Michelotto, André Luiz da Costa
Análise da capacidade seladora de materiais obturadores endodônticos utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas/ André Luiz da Costa Michelotto; orientador Antonio Carlos Bombana. -- São Paulo, 2009.
125p. : fig., tab., graf.; 30 cm.

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

1. Materiais obturadores do canal radicular – Capacidade seladora 2. Endodontia

CDD 617.6342
BLACK D24

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

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail: andremichelotto@hotmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Michelotto ALC. Análise da capacidade seladora de materiais obturadores endodônticos utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo,___ /___/2009

Banca Examinadora

1) Prof.(a). Dr.(a)._____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura:_____

2) Prof.(a). Dr. (a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura:_____

3) Prof.(a). Dr.(a)._____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura:_____

4) Prof.(a). Dr.(a)._____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura:_____

5) Prof.(a). Dr.(a)._____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, **Pedro e Maria**, pelo apoio, amor e carinho transmitidos durante toda a minha vida e que serviram de base para alcançar todas as conquistas, superando os obstáculos e também para saber lidar com as derrotas e os momentos difíceis com muita dignidade. Agradeço por tudo que fizeram e ainda fazem por mim.

Aos meus irmãos **Pedro e Marcus**, às minhas queridas cunhadas **Ana e Cristine** e aos meus sobrinhos **Mariana, João, Júlia e Bernardo**. A alegria e união com certeza me deram forças e tranqüilidade para superar mais esta importante etapa em minha vida.

À querida **Daniela** com todo o meu carinho, agradeço o apoio, os ensinamentos e a compreensão pelo tempo dedicado a este trabalho.

A **Deus** por sempre iluminar o meu caminho e por me passar serenidade para entender as coisas da vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana**, meus sinceros agradecimentos por toda a importante contribuição. Sempre com muita disposição, me deu toda a atenção necessária para este trabalho. Após este convívio passei a admirá-lo pela pessoa que é e pelo vasto conhecimento que possui. Com a calma de sempre, direcionou este estudo, apresentando os melhores caminhos e me passando tranqüilidade nos momentos difíceis. Sinto-me muito honrado por ter sido orientado por você. Serei sempre muito grato por tudo.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Roberto Pontarolo**, que me disponibilizou seu laboratório de última geração e sua brilhante equipe, sem medir esforços para a realização desta pesquisa. Muito atarefado, mas sempre com tempo para que eu pudesse sanar as minhas dúvidas, que não eram poucas. Quando iniciamos, a minha objetividade inicial e ansiedade foram transformadas em cautela e paciência. A cada dia que passávamos tentando desvendar os mistérios da “bolha” e recebendo os seus ensinamentos, pude aos poucos aumentar o meu senso crítico com a pesquisa. Hoje possuo um rigor científico muito mais apurado, graças à forma como conduziu esse trabalho, me transmitindo um pouco da sua vasta experiência e imensurável conhecimento. Muito obrigado pelo apoio. Nunca vou esquecer o que fez por mim.

Ao meu eterno orientador, **Prof. Dr. Gilson Blitzkow Sydney**, que conduziu a minha carreira profissional da melhor forma possível, sempre me apoiando e sem medir esforços para que alcançasse os meus objetivos. Desde que me acolheu na monitoria, passando pela especialização, mestrado e até os dias de hoje, quero que saiba que aprendi muito com você. Nas tuas aulas, no convívio na faculdade e fora dela, sempre te observei no modo em que conduzia tudo isso, pois sabia da sua competência e que se me espalhasse nela, poderia colher frutos no futuro. Minha admiração pela sua capacidade e pelo seu conhecimento sempre foi muito grande e sempre tive muito orgulho em fazer parte da sua equipe. Sempre falei isso com muita satisfação para todos. Agradeço a Deus por ter te colocado no meu caminho. Serei eternamente grato por tudo o que fez e ainda faz por mim. Muito obrigado.

À **Prof. Dr.ª. Francinete Ramos Campos**, minha parceira na pesquisa, agradeço pelo seu empenho e contribuição. Mesmo muito atarefada no laboratório, dispensou o seu precioso tempo em coordenar e colaborar na execução de toda a parte experimental do estudo. Sempre disposta e com entusiasmo, independente de dia ou horário, foi uma parceira, orientadora, amiga e sempre uma incentivadora, mesmo nos momentos difíceis. Aprendi muito com você. Não tenho palavras para agradecer o que você fez por mim. Muito obrigado por tudo.

Ao **João Gasparetto**, pela parceria na pesquisa. Contribuiu da melhor maneira possível, com seus conhecimentos e entusiasmo fundamentais principalmente nos momentos difíceis e de dúvidas. Dedicou-se sempre acrescentando muita qualidade e motivação para o desenvolvimento deste trabalho. Não tenho dúvidas, que por sua vontade e dedicação demonstrada em suas atividades, terá muito sucesso em sua carreira profissional e na sua vida. É o que desejo e agradeço por tudo.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Abílio Albuquerque Maranhão de Moura**, que me orientou até a qualificação da melhor forma possível, transmitindo os seus conhecimentos e toda a atenção necessária até a conclusão desta etapa. Meus sinceros agradecimentos.

À minha amiga **Prof. Dr.ª. Marili Doro Andrade Deonizio**, que me apresentou o Prof. Pontarolo e foi diretamente responsável pelo caminho seguido. Sugeriu a idéia de pesquisarmos sobre a filtração de fluido onde pude adquirir muitos conhecimentos e a evoluir em termos de pesquisa . Colaborou sempre com muita prontidão e incentivo. Agradeço muito pela sua ajuda e amizade.

Ao **Prof. Natanael Henrique Ribeiro Mattos**, pelo apoio fundamental durante a realização dos créditos e pelos ensinamentos passados como meu professor na graduação e na especialização, que foram essenciais na minha formação.

Ao amigo **Prof. Dr. Carlos Eduardo Aun**, pelo apoio e força antes mesmo do doutorado e pelos conhecimentos passados durante o curso. Muito obrigado pela atenção e amizade.

Ao **Prof. Dr. Luciano Loureiro de Melo**, pelos ensinamentos transmitidos durante a minha formação acadêmica e no curso de especialização. Atualmente colega na disciplina de Endodontia da Universidade Tuiuti do Paraná onde ainda desfruto de seus conhecimentos e de sua amizade.

Ao **Prof. Joel Alves da Silva Jr.**, meu grande amigo e companheiro de disciplina na Tuiuti. Agradeço o seu incentivo durante a minha formação como professor e também por ter aprendido muito com você. Nunca me esquecerei dos anos em que estivemos juntos na universidade e dos momentos fora dela. Agradeço a sua lealdade e a amizade.

Aos meus queridos amigos de pós-graduação **Ângela, Akisue, Cacio, Janet, Cabrales, Marina, Patrícia, Rocio e Soraia**, pela amizade, companheirismo e união. A presença de vocês fez com que as minhas viagens semanais a São Paulo fossem mais prazerosas, por saber que encontraria pessoas especiais como vocês. Jamais me esquecerei dos momentos que passamos juntos e da amizade que construímos. Desejo muito sucesso, paz e alegria a todos.

Aos grandes amigos **Augusto Ricardo Andrighetto e Siddhartha Uhrigshardt Silva** pela colaboração durante o curso e a realização da Tese.

À secretária do departamento **Ana Maria de Souza** sempre disposta a colaborar, atenciosa, pacienciosa e dedicada.

Ao **Paulo**, vidreiro da Universidade Federal do Paraná, grande pessoa, sempre atendeu prontamente aos meus pedidos. Agradeço a atenção e colaboração.

Ao **Luizinho** pela amizade e aos demais funcionários da USP que colaboraram de alguma forma.

Ao **Marcos** do laboratório pelas sugestões e contribuições durante a realização da parte experimental.

Ao **Francisco**, pela amizade e importante colaboração no decorrer da parte experimental.

À **Universidade Tuiuti do Paraná** pelas oportunidades e o meu orgulho de fazer parte desta instituição.

À **Universidade de São Paulo** pelo apoio com o material utilizado no decorrer da pesquisa.

Michelotto ALC. Análise da capacidade seladora de materiais obturadores endodônticos utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a capacidade seladora de três materiais obturadores endodônticos, com a proposição de uma nova forma de quantificação da infiltração e um novo agente traçador, utilizando um sistema semelhante ao do modelo experimental da glicose. Trinta e seis dentes unirradiculares extraídos tiveram as coroas removidas, permanecendo 12 mm das raízes. Os canais radiculares foram instrumentados e obturados com o sistema Epiphany (GE) ou com a condensação lateral da guta-percha e cimentos AH Plus (GA) ou Sealapex (GS). Com o auxílio de um calcador aquecido removeu-se 7 mm de material obturador. Seis espécimes com os canais completamente obturados tiveram as raízes totalmente impermeabilizadas com duas camadas de esmalte de unhas, constituindo o grupo controle negativo. Os espécimes foram separados em dois grupos para a realização de dois experimentos que diferiram quanto ao modo de adaptação do espécime no sistema (cianoacrilato ou resina epóxi). Uma solução de cafeína (pH 6.0) foi forçada no sentido coronário com uma pressão hidrostática de 2.55 kPa em direção apical. A infiltração foi medida em ng/mL, pela concentração de cafeína na solução receptora do reservatório, em intervalos de 10, 30 e 60 dias. Para a quantificação foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM/EM). Esta técnica apresentou alta sensibilidade e especificidade na quantificação do agente traçador. Em função da limitação dos agentes de vedação (cianoacrilato e resina epóxi) empregados no modelo experimental, não foi emitida conclusões a respeito da capacidade seladora dos materiais obturadores testados.

Palavras-Chave**:** infiltração, materiais obturadores, capacidade seladora, CLAE-EM, cafeína

Michelotto ALC. Sealing ability of root canal filling materials by high performance liquid chromatography -tandem mass spectrometry [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

The objective of this study was to propose a new way to measure infiltration with a new tracing agent by using a system similar to that of the glucose penetration model. Thirty-six single-root extracted teeth had their root canals filled using the Epiphany system or with a lateral condensation of gutta-percha and AH Plus or Sealapex cement. Two experiments were carried out that used a different mode of adapting the specimen within the system (cyanoacrylate or epoxy resin). A caffeine solution (pH 6.0) was forced in a coronary direction with a hydrostatic pressure of 2.55 kPa towards the tooth apex. The infiltration was measured in ng/mL, by the concentration of caffeine in the receptor solution of the apical reserve at intervals of 10, 30, and 60 days. To quantify the measurements, a high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was used. This technique showed a high sensitivity and specificity for quantifying the tracing agent. Due to the limitations of the sealing agents (cyanoacrylate and epoxy resin) used in our experimental model, analysis of the sealing ability of the filling materials tested was not performed. It is necessary to carefully validate the principal variables of the systems that assess infiltration in order to standardize studies and give greater credibility to their results.

Keywords: Leakage model, root canal filling material, sealing ability, HPLC-MS, caffeine

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Adaptação dos espécimes dos grupos experimentais no tubo de silicone com cianoacrilato e resina epóxi.....78

Figura 4.2 - Adaptação do espécime com o tubo de silicone no recipiente de vidro 79

Figura 4.3 - Fotografia e desenho esquemático do modelo experimental para a avaliação da infiltração.....80

Figura 4.4 - CLAE-EM do centro de estudos em Biofarmácia (UFPR).....81

Figura 4.5 - Visão lateral do CLAE-EM/EM do centro de estudos em Biofarmácia UFPR).....82

Figura 4.6 - Imagem do software durante a aquisição dos dados correspondentes à infiltração para um dos espécimes.....82

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1 - Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 10 dias 89

Gráfico 5.2 - Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 30 dias 89

Gráfico 5.3 - Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 60 dias 90

Gráfico 5.4 - Representação gráfica da evolução da penetração da cafeína nos grupos experimentais e no grupo controle negativo, nos períodos analisados.....90

Gráfico 5.5 - Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 30 dias 94

Gráfico 5.6 - Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 60 dias 94

Gráfico 5.7- Representação gráfica da evolução da penetração da cafeína nos grupos experimentais, controle negativo e branco, nos períodos analisados.....95

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Medidas descritivas dos dados observados em 10 dias.....86

Tabela 5.2 - Medidas descritivas dos dados observados em 30 dias.....86

Tabela 5.3 - Medidas descritivas dos dados observados em 60 dias.....86

Tabela 5.4 - Teste de Kruskal-Wallis para o período de 10 dias.....87

Tabela 5.5 - Teste de Kruskal-Wallis para o período de 30 dias.....87

Tabela 5.6 - Teste de Kruskal-Wallis para o período de 60 dias.....87

Tabela 5.7 - Teste de Friedman para o grupo controle negativo.....88

Tabela 5.8 - Teste de Friedman para o grupo E.....88

Tabela 5.9 - Teste de Friedman para o grupo S.....88

Tabela 5.10 - Teste de Friedman para o grupo A.....88

Tabela 5.11 - Medidas descritivas dos dados observados em 10 dias.....91

Tabela 5.12 - Medidas descritivas dos dados observados em 30 dias.....91

Tabela 5.13 - Medidas descritivas dos dados observados em 60 dias.....91

Tabela 5.14 - Teste de Kruskal-Wallis para o período de 30 dias.....92

Tabela 5.15 - Teste de Kruskal-Wallis para o período de 30 dias.....92

Tabela 5.16 - Teste de Friedman para o grupo controle negativo.....92

Tabela 5.17 - Teste de Friedman para o grupo E.....93

Tabela 5.18 - Teste de Friedman para o grupo S.....93

Tabela 5.19 - Teste de Friedman para o grupo A.....93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDTA-T	Ácido etilenodiamino tetra-acético e Tergentol
CLAE-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
ISO	International Standard Organization
IS	Internal Standard
atm	unidade de pressão
cm	centímetro
cm H_2O	unidade de pressão
kPa	unidade de pressão
kV	Quilovolts
L/h	Litros por hora
µL	microlitro
min	minuto
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
mM	milimolar
mmHg	unidade de pressão
mtorr	unidade de pressão
m/z	relação massa/carga
n	número de espécimes
ng	nanograma

psi	unidade de pressão
UV-Vis	ultravioleta visível
v/v	relação volume/volume
x	vezes
ºC	graus Celsius
#	número

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19

2 REVISÃO DA LITERATURA 22

2.1 Métodos que utilizam a filtração de fluido 23

2.2 Métodos que utilizam corantes 39

2.3 Métodos que utilizam microorganismos 49

2.4 Métodos que utilizam a glicose 53

2.5 Comparações dos métodos de infiltração 60

3 PROPOSIÇÃO 70

4 MATERIAL E MÉTODOS 72

4.1 Material 73

4.2 Métodos 74

4.2.1 Instrumentação e obturação dos canais radiculares 75

4.2.2 Modelo experimental 77

4.2.3 Análise da infiltração por CLAE-EM-EM 81

4.2.4 Metodologia estatística 83

5 RESULTADOS 85

6 DISCUSSÃO 96

7 CONCLUSÕES 115

REFERÊNCIAS 117

ANEXOS 124

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Para que o objetivo final da terapia endodôntica seja alcançado, uma obturação que impermeabilize o sistema de canais radiculares com um material obturador não irritante e que estimule o processo de reparo periapical, é condição fundamental.

A guta-percha associada a um cimento obturador tem sido considerada o material de escolha, por apresentar boa tolerância tecidual, boa adaptação às paredes dentinárias, bem como satisfatória estabilidade dimensional, radiopacidade e facilidade de remoção. Entretanto, limitações como pouca rigidez, pouca adesividade, podendo ser deslocadas por pressão, estimulam a busca por um material mais completo que possibilite uma melhor impermeabilização do sistema de canais radiculares.

Um novo material, Resilon (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, EUA), foi desenvolvido com o objetivo de substituir a guta-percha na obturação de canais radiculares. O cone de Resilon é composto por um polímero sintético termoplástico (poliéster) que contém vidro bioativo, oxicloreto de bismuto e sulfato de bário. Assim como os cones de guta-percha, encontram-se disponíveis em diâmetros do sistema ISO, com conicidades 0,02; 0,04 e 0,06 e também em tamanhos acessórios. Além disso, segmentos desse material são disponíveis para uso com um sistema de injeção da guta-percha termoplastificada. Para a obturação, estes cones são associados a um cimento compósito à base de resina com polimerização dual. Todas as técnicas de obturação podem ser usadas com o Resilon (BARNETT 2004). Michelotto et al. (2005) encontraram resultados satisfatórios em obturações realizadas com o sistema RealSeal, quanto à penetração do material obturador em

canais laterais e quanto à qualidade da obturação. Mostraram ainda não haver diferença estatística significante entre as técnicas utilizadas (condensação lateral, System B e técnica de McSpadden).

Na medida em que novos materiais e técnicas surgem, estudos devem ser realizados para justificar a aplicação clínica destes sistemas obturadores. Todas as suas propriedades devem ser avaliadas cientificamente. Dentre elas podemos destacar a capacidade seladora do material no interior dos canais radiculares. Muitos estudos têm sido realizados através dos anos, quanto à infiltração em obturações. Várias metodologias já foram reportadas na literatura. Mas a falta de padronização e validação destes experimentos faz com que os resultados destas pesquisas sejam questionáveis e sua correlação com a aplicação clínica duvidosos.

Os estudos com a utilização de corantes prevalecem nas publicações a respeito da infiltração. Outros métodos também foram preconizados, com destaque para a filtração de fluido e a utilização de microorganismos. Xu et al. (2005) propuseram a utilização da glicose como um agente traçador e o emprego de um espectrofotômetro para a quantificação da infiltração. Por ser um método recente e frente ao descrédito e as limitações das diversas metodologias, o aprimoramento deste teste, buscando um maior rigor metodológico com resultados confiáveis, justifica a presente pesquisa, que propõe a utilização da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas e o emprego da cafeína como um agente traçador.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Métodos que utilizam a filtração de fluido

Derkson, Pashley e Derkson (1986) desenvolveram o método da filtração de fluído para a avaliação da permeabilidade dentinária e microinfiltração em materiais restauradores. Utilizaram um aparato de acrílico (plexiglass), com uma cavidade no centro, realizada com uma broca de diâmetro suficiente para se acoplar um tubo metálico de diâmetro 18, que foi selado com cianoacrilato. O final do tubo coincidia com a superfície do aparato. Os segmentos coronários foram centralizados e colados com a mesma cola. O sistema foi preenchido com solução tampão fosfato contendo 0,2% de corante fluorceína, para facilitar a visualização da bolha. Introduziram corantes nas câmaras pulpares das coroas e aplicaram uma pressão constante de 15 psi, no sistema fechado. A movimentação de uma bolha em uma micropipeta foi mensurada em µL/min, correspondente a microinfiltração. Avaliaram restaurações realizadas em amálgama com e sem verniz cavitário, em cavidades classe I, feitas nas superfícies oclusais de terceiros molares extraídos. Mediram a infiltração em intervalos de 10 minutos, 24 horas, 3 e 4 meses após realizadas as restaurações. Os resultados mostraram que restaurações em amálgama com aplicação prévia de verniz cavitário, infiltraram menos que quando o verniz não foi utilizado. Concluíram que o método foi eficaz para o objetivo proposto e permitiu uma análise quantitativa da microinfiltração, *in vitro*, não destrutiva e longitudinalmente.

Utilizando o mesmo sistema, porém com pressão de 20 psi, Anderson, Powell e Pashley (1988) avaliaram a infiltração de três materiais restauradores endodônticos temporários (Cavit, IRM e TERM), em cavidades de acesso realizadas em dentes incisivos, caninos e pré-molares hígidos extraídos. Um tubo de polietileno conectou o reservatório de ar, a micropipeta, a microseringa e o plexiglass. Avaliaram as infiltrações em 1 hora, 24 horas e 7 dias. Mediram o deslocamento da bolha durante um minuto, quatro vezes seguidas. Mostraram que o método permite uma avaliação quantitativa, sem destruição da amostra. Entretanto tem limitações para este objetivo, pois o que mais influencia na adaptação marginal de um material é a função mastigatória. Concluíram que as restaurações realizadas com o IRM infiltraram em maior grau após sete dias.

Rutledge e Montgomery (1990) verificaram se algumas medicações intracanais poderiam influenciar na capacidade seladora do material restaurador provisório TERM. Confeccionaram cavidades de acesso padronizadas em cinqüenta molares inferiores extraídos. Com o auxilio de uma cureta, removeram o conteúdo da câmara pulpar e ultrapassaram o forame de um dos canais, com um instrumento #25. Separaram os dentes em cinco grupos quanto à medicação utilizada: bolinha de algodão seca (controle), bolinha de algodão embebida em eugenol, bolinha de algodão embebida em formocresol, bolinha de algodão embebida em paramonoclorofenol canforado e preenchimento da câmara pulpar com uma pasta de perborato de sódio e peróxido de hidrogênio 30%. Após a inserção dos materiais, aplicaram camadas de aproximadamente 4 mm de TERM nas cavidades de acesso. Na avaliação da infiltração, utilizaram o método da filtração de fluidos preconizada por Anderson, Powell e Pashley (1988), com algumas modificações. Usaram água destilada contendo um corante vermelho (FD&C #40). As medições foram realizadas

a partir da porção coronária dos dentes e avaliadas em intervalos de 1 hora, 24 horas, 3, 7 e 14 dias após as restaurações. No décimo quinto dia, os dentes foram removidos do aparato e submetidos a variações térmicas. Readaptaram os corpos de prova no sistema e realizaram novas medições. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os grupos controle, formocresol e paramonoclorofenol canforado. Os piores resultados apontaram para o grupo contendo a pasta de perborato de sódio com peróxido de hidrogênio 30%.

Yoshimura, Marshall e Tinkle (1990) avaliaram a infiltração do amálgama como um material retroobturador, em 12 caninos extraídos, que tiveram suas coroas removidas e os canais preparados até um instrumento #40. Obturaram os canais com a técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento de Grossman. Realizaram a apicectomia em 2 mm dos ápices, mantendo uma inclinação de 45 graus de lingual para vestibular. Confeccionaram a cavidade com 1 mm de profundidade. Utilizaram o método de filtração de fluidos semelhante ao preconizado por Derkson, Pashley e Derkson (1986) e Anderson, Powell e Pashley (1988), com pressão de 10 psi, no sentido apical e coronário. Inicialmente avaliaram no sentido coronário e após a recolocação dos dentes no sistema, realizaram a avaliação com a pressão aplicada no sentido apical. Mediram a infiltração em intervalos de 90 minutos, 6 horas, 1 e 2 dias, 1, 2, 4 e 8 semanas. A cada teste as medições foram realizadas durante períodos de 5 minutos e repetidas por três vezes. Os resultados mostraram que as infiltrações diminuíram a partir de 90 minutos até 6 horas. No intervalo de um dia até oito semanas notaram pequenas alterações, porém sem diferença estatística, nas duas direções. Concluíram que esta metodologia foi capaz de medir a infiltração quantitativamente e longitudinalmente, usando o mesmo corpo de prova, no sentido coronário e apical.

Wu et al. (1993) desenvolveram um novo modelo de filtração de fluidos, baseando-se nos estudos de Derkson, Pashley e Derkson (1986). Este novo modelo permite a verificação da passagem de fluido através de canais radiculares obturados. Após a remoção da coroa, preparo e obturação do canal radicular do elemento dental, um tubo plástico foi conectado à parte coronária da raiz. A porção radicular foi conectada a um segmento do tubo plástico, que teve a sua porção final adaptada a um tubo capilar de vidro de 20 µL, com 170 mm de comprimento. O tubo plástico e o capilar foram preenchidos com água destilada. Uma bolha de ar de aproximadamente 3 mm de comprimento foi introduzida pela abertura final do capilar e posicionada na escala. Todas as conexões foram adaptadas com um arame de aço com 0,2 mm de diâmetro, torcido sobre o tubo, em contato com a raiz e o capilar. O aparato foi submerso em água a 20 ºC, sendo o início do tubo plástico adaptado à raiz e ajustado a um cilindro de ar com pressão constante de 1,2 atm. Se existissem falhas nas obturações, a pressão da água passaria através dos espaços, provocando a movimentação da bolha no capilar. Realizaram a calibração do sistema, adaptando uma raiz sem material obturador. Com o auxílio de uma seringa, injetaram 1,5 µL de água destilada, pela parte do tubo conectada à porção coronária da raiz. Mediram o volume de água que passou pelo canal vazio, pelo deslocamento da bolha no capilar. Repetiram este procedimento dez vezes antes dos testes. Ainda neste estudo, os autores compararam este novo sistema com a penetração bacteriana através dos canais radiculares obturados. Utilizaram 10 mm das raízes de 62 caninos superiores extraídos, cujos canais foram preparados até um instrumento #60. Com o auxílio de uma broca, as raízes tiveram suas superfícies externas desgastadas, originando uma forma cilíndrica para facilitar a adaptação no tubo plástico. Duas raízes sem obturação constituíram o grupo controle positivo e dois

pedaços de vidro com 10 mm de comprimento e 4,0 mm de diâmetro, compuseram o grupo controle negativo. Os canais foram obturados com a técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento AH 26. As raízes foram impermeabilizadas com duas camadas de esmalte para unhas, exceto em áreas próximas a coronária do canal e apical da raiz. Metade das raízes foi contaminada com a bactéria *Pseudomonas aeruginosa.* Verificaram a infiltração em um período de cinqüenta dias. Após este intervalo, duas amostras permitiram a penetração do microorganismo até a região apical. As demais raízes foram armazenadas a 37 ºC e 100% de umidade, por 48 horas antes da avaliação com o método da filtração de fluido. Mediram três vezes o deslocamento da bolha para cada espécime. Os resultados foram divididos em três categorias, onde 39 espécimes constituíram a categoria impermeável, 14 a de infiltração leve e 7 a de infiltração acentuada. Os dois espécimes que apresentaram contaminação bacteriana situaram-se nas categorias leve e pesada. As raízes que apresentaram altos níveis de infiltração foram seccionadas em intervalos de 3 mm e examinadas em magnitude para excluir a possibilidade de trincas na dentina. Concluíram que o teste com penetração prévia de bactérias não influenciou estatisticamente no padrão de transporte de fluido medido posteriormente. E que as amostras que apresentaram infiltração pelo método da filtração de fluido, na sua maioria não permitiram a passagem de bactérias.

Fogel (1995) avaliou a infiltração apical em pinos usados para restaurações de dentes tratados endodonticamente, variando-se os materiais utilizados na cimentação. Utilizou as raízes de oitenta dentes anteriores extraídos, cujos canais foram preparados até um instrumento #25. Com uma broca Para Post #4 prepararam o espaço para receber o pino, numa profundidade de 7 mm. Utilizando

uma broca em baixa rotação, removeu o ápice das raízes deixando um comprimento de 10 mm. Os dentes foram divididos em cinco grupos quanto aos materiais para cimentação: cimento de fosfato de zinco, cimento de policarboxilato, cimento resinoso, cimento resinoso com o uso de adesivo dentinário e cimento resinoso com o uso de condicionador e adesivo dentinário. Alguns canais foram deixados vazios ou com os pinos sem cimentação (grupo controle positivo) e outros com os pinos cimentados com cianoacrilato (grupo controle negativo). As porções apicais das raízes foram alargadas para permitir a colocação de uma agulha de aço de diâmetro 18, para a avaliação da infiltração com o sistema de filtração de fluido semelhante ao preconizado por Derkson, Pashley e Derkson (1986). Os resultados mostraram que nenhum sistema de cimentação foi capaz de proporcionar um selamento adequado.

Johnson, Anderson e Pashley (1995) avaliaram a infiltração de cinco diferentes marcas de amálgama, com diferentes formulações, em retroobturações. Selecionaram cento e uma raízes de dentes anteriores, pré-molares e palatinas de molares superiores. Os canais foram instrumentados com limas Flex-R e brocas de Gates-Glidden. Com uma broca diamantada em alta rotação, removeram de 2 a 3 mm apicais dos ápices radiculares, perpendicularmente à raiz. Confeccionaram as cavidades para a retroobturação, com broca *carbide* esférica número 2, em baixa rotação, com 3 mm de profundidade. Um segmento de um cone de guta-percha foi adaptado no fundo das cavidades, servindo como um anteparo para a condensação do amálgama. As raízes foram separadas em onze grupos com onze amostras em cada grupo. Os materiais testados foram: Tytin (SS White), Dispersalloy (Johnson & Johnson), Valiant PhD (L. D. Caulk), Permit C e New True Dentalloy (SS White). Cada material constituiu dois grupos diferentes, dependendo das condições da cavidade para o recebimento do material: seca ou com a presença de sangue

humano. Um grupo adicional teve as cavidades obturadas apenas com a condensação vertical da guta-percha aquecida, sem cimento endodôntico (controle positivo). Utilizaram para a avaliação dos corpos de prova, o método da filtração de fluido, com pressão de 10 psi. Mediram a infiltração durante um minuto, quatro vezes consecutivas, em intervalos de 1, 2, 4, 8, 12 e 24 semanas após as obturações. O amálgama Tytin (SS White) apresentou os piores resultados, não havendo diferença estatística significante entre os demais grupos. A contaminação com sangue não afetou adversamente o selamento apical das amostras, em todos os grupos.

Forte et al. (1998) avaliaram a infiltração do Super-EBA com ou sem polimento, como material retroobturador. Utilizaram 65 dentes ântero-superiores, que tiveram suas coroas removidas e os canais instrumentados até no mínimo um instrumento #60. Removeram 2 mm dos ápices radiculares e colocaram um cone de guta-percha de número 60, sem cimento, ultrapassando o final da raiz. Removeram o excesso com lâmina de bisturi. Com sistema um ultra-sônico realizaram cavidades com 3 mm de profundidade. Dividiram os dentes em três grupos: Super-EBA com polimento com broca em alta rotação, Super-EBA com brunimento a frio e TERM com brunimento a frio, que serviu como grupo controle negativo. Após esta etapa, removeram a guta-percha dos canais permanecendo apenas os materiais retroobturadores. Utilizaram o método da filtração de fluido semelhante à preconizada por Derkson, Pashley e Derkson (1986). As amostras foram avaliadas durante um minuto, quatro vezes consecutivas, em intervalos de 24 horas, 1 semana, 1, 3 e 6 meses. Não encontraram diferenças estatísticas significativas entre os grupos testados.

Sullivan et al. (1999) avaliaram a capacidade seladora do Super-EBA , com o método da filtração de fluido, semelhante ao descrito por Derkson, Pashley e

Derkson (1986). As amostras foram avaliadas em intervalos de dois dias e um mês após as obturações, com 15 psi de pressão. Foram utilizadas as raízes de quarenta dentes extraídos unirradiculares, cujos canais foram instrumentados com o sistema Profile. As amostras foram divididas em três grupos quanto às obturações: técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento Roth's 801, IRM e Super-EBA. Após as obturações, deixaram apenas 5 mm da porção apical com o material obturador. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os grupos, após um mês. No período de dois dias, o Super-EBA apresentou os melhores resultados.

Wu, Fan e Wesselink (2000) estudaram em longo prazo, as obturações realizadas com guta-percha sem cimento endodôntico. Utilizaram as raízes de oitenta incisivos centrais superiores extraídos, cujos canais foram ampliados até um instrumento #60. As amostras foram divididas em dois grupos experimentais e dois grupos controle, com vinte em cada grupo. Nos grupos experimentais os canais foram obturados somente com guta-percha e nos grupos controle com guta-percha e cimento. Os cones de guta-percha utilizados na obturação dos canais do primeiro grupo experimental tiveram de 4 a 5 mm de suas pontas, imersas durante dois segundos em clorofórmio. Em seguida, inseriram os cones nos canais com leve pressão, no comprimento de trabalho e finalizavam a obturação com a condensação lateral de cones acessórios, cujas pontas eram deixadas por menos de um segundo no clorofórmio. Os canais do segundo grupo experimental e do primeiro grupo controle foram obturados com a técnica da condensação vertical da guta-percha aquecida, e este último com a adição do cimento endodôntico Pulp Canal Sealer. Os canais do segundo grupo controle foram obturados pela técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento AH26 livre de prata. Após as obturações, apenas os

4 mm apicais eram deixados nos canais, simulando os procedimentos de preparo para pino. Para a verificação da infiltração, utilizaram o sistema de filtração de fluido, desenvolvido pelos autores, em 1993, mas com pressão de 0,3 atm. Avaliaram as obturações nos intervalos de 48 horas e 6 meses. Os resultados mostraram que após 48 horas, os canais obturados com guta-percha sem cimento infiltraram mais que os obturados com cimento. Após 6 meses, encontraram uma redução significante na infiltração, nos grupos obturados apenas com a guta-percha. Os canais obturados com a condensação vertical da guta-percha, com e sem cimento, apresentaram resultados semelhantes. Concluíram que o selamento, em longo prazo, é influenciado pela alteração no volume da guta-percha e do cimento endodôntico. A redução na infiltração pela expansão da guta-percha é compensada pela infiltração que pode ocorrer pela dissolução do cimento.

Marley, Ferguson e Hartwell (2001) avaliaram se o uso do gluconato de clorexidina a 0,12% como solução irrigadora, poderia afetar o selamento apical de obturações realizadas com a técnica da condensação lateral com três diferentes cimentos endodônticos (Roth's 811, AH26 e Sealapex). Cem dentes unirradiculares foram divididos em 9 grupos experimentais com 10 dentes e grupos controle positivo e negativo com 5 dentes em cada grupo. Os espécimes tiveram as coroas removidas e os canais preparados até um instrumento #50. Irrigaram os canais com solução salina estéril, hipoclorito de sódio a 5,25% ou gluconato de clorexidina a 0,12%. Os canais do grupo controle positivo foram obturados com guta-percha sem cimento e os do grupo controle negativo com a condensação lateral da guta-percha e cimento Roth's 811. Após esta etapa, 5 mm da guta-percha a partir da medida de trabalho foram removidas. Para os grupos experimentais, aplicaram duas camadas de esmalte para unhas nas superfícies radiculares, não envolvendo os 2 mm finais.

Os dentes do grupo controle negativo tiveram suas raízes totalmente recobertas pelo esmalte. Avaliaram a infiltração com o método da filtração de fluído, semelhante à descrita por Derkson, Pashley e Derkson (1986). Após a ativação do sistema a uma pressão de 10 psi, aguardavam 2 minutos para as medições, para cada amostra. Após este tempo, realizaram as medições por 1 minuto, quatro vezes consecutivas em intervalos de 90 e 180 dias. Concluíram não haver diferença estatística significante entre os grupos.

Pommel e Camps (2001) estudaram a influência do tempo de medição e da pressão nos resultados do método de filtração de fluido. Utilizaram as raízes de trinta e seis incisivos centrais superiores extraídos, cujos canais foram instrumentados com o sistema Profile e obturados com o sistema Thermafil e cimento de óxido de zinco e eugenol. As amostras foram divididas em dois grupos quanto à pressão aplicada no sistema: baixa pressão (15 cm H_2O) e alta pressão (150 cm H_2O). As raízes foram inseridas em um tubo de silicone e a interface selada com cianoacrilato. O tubo foi conectado a um capilar com diâmetro interno de 0,7 mm, repleto de solução tampão fosfato com penicilina, estreptomicina e fungicida. A pressão se manteve constante em função da manutenção de uma via aberta a atmosfera, preenchida com o mesmo líquido, mais elevada que o tubo posicionado horizontalmente. Mediram o deslocamento da bolha com um sistema computadorizado e com uma sensibilidade de cinco micrômetros. Durante as medições, as raízes foram armazenadas em água para prevenir a evaporação de líquido através da dentina radicular ou a absorção de líquidos em função da secura dentinária. Avaliaram em intervalos de 2 minutos, 1 hora e 24 horas após as obturações. Mostraram que ambos os fatores influenciaram nos resultados. A infiltração diminuiu com o aumento no tempo das medições e os maiores índices

ocorreram quando o sistema estava submetido à alta pressão. Concluíram que há uma necessidade na padronização do método para se comparar os resultados dos diferentes estudos.

Wu et al. (2001) avaliaram a qualidade do material obturador em 40 incisivos inferiores, divididos em 2 grupos, utilizando o sistema de filtração de fluido proposto por Wu et al. (1993). Os dentes tiveram as coroas removidas e apenas 12 mm das raízes foram mantidas. Os canais radiculares foram preparados até um instrumento #40 e obturados com o sistema obtura, até 1 mm aquém do vértice radicular. Em todos os canais utilizaram guta-percha e cimento AH26 como material obturador. Durante a obturação dos terços médio e cervical utilizaram cimento nos canais do grupo 1 e mantiveram sem cimento os canais do grupo 2. Removeram os 2 mm finais das raízes e realizaram um preparo apical para obturação retrógrada de 3 mm de profundidade. Dez incisivos centrais superiores foram obturados com a técnica da condensação lateral da guta-percha. Metade dos dentes foi obturada sem cimento (controle positivo) e os demais com cimento e ainda tiveram a superfície radicular impermeabilizada com duas camadas de esmalte para unhas (controle negativo). Cada raiz foi adaptada em um cilindro com resina acrílica. As margens entre o cilindro e as raízes foram seladas com cianoacrilato. Estes cilindros contendo as raízes foram adaptados nos tubos plásticos do sistema, nos dois sentidos. Todas as conexões foram realizadas torcendo um fio de aço de arame e as amostras foram submersas em um recipiente contendo água a 20ºC. Utilizaram pressão de 0.3 atm. Após a avaliação da infiltração, todas as raízes foram seccionadas horizontalmente, 3 mm a partir da porção apical. Imagens foram capturadas por um microscópio em uma ampliação de quarenta vezes e calcularam o diâmetro interno vestíbulo-lingual, a área do canal e a porcentagem de guta-percha da obturação. Os resultados

mostraram a ocorrência de infiltração em 67% das amostras, sem diferença estatística significante entre os grupos.

Cobankara et al. (2002) quantificaram *in vitro* a infiltração apical em dentes ântero-superiores obturados com guta-percha e os cimentos AH Plus, RoekoSeal, Ketac-Endo e Sultan. As coroas dos dentes foram removidas e os canais preparados até um instrumento #60. Usaram a técnica da condensação lateral. O método de filtração de fluido, semelhante ao desenvolvido por Wu et al. (1993), foi empregado em 7, 14 e 21 dias após as obturações. Utilizaram água destilada a uma pressão de 3 psi. Mediram o deslocamento da bolha em intervalos de 2 minutos, durante 8 minutos, originando uma média. Mostraram que as infiltrações foram menores após 21 dias, para todos os grupos. O cimento Sultan apresentou maiores índices de infiltrações que os demais. Concluíram também que o método da filtração de fluido proporcionou resultados quantitativos e permitiu uma avaliação em longo prazo sem destruir as amostras.

Kardon et al. (2003) avaliaram a infiltração em obturações realizadas com o cimento EndoRez e um cone único de guta-percha. Usaram 64 pré-molares inferiores, cujas coroas foram removidas e divididos em três grupos de 20 dentes cada, com 4 dentes usados como controle positivo e negativo. Os canais foram preparados com uma associação de limas do sistema GT e Profile, com máxima ampliação apical correspondente a um instrumento #40. Os dentes do grupo 1 foram obturados com cimento EndoRez e um cone único de guta-percha, os do grupo 2 com cimento AH Plus e cone único e para o grupo 3 empregaram a técnica da compactação vertical da guta-percha aquecida e cimento AH Plus. Usaram o método de filtração de fluido com algumas modificações. As extremidades dos dentes foram inseridas em um tubo de borracha e amarrados com fios de arame torcidos. Dois

adaptadores de seringa tipo Luer uniram os tubos de borracha com os tubos de polietileno do sistema. O sistema foi preenchido com água, com uma pressão de 16 psi. Uma micropipeta acoplada ao sistema foi utilizada para as medições do deslocamento da bolha, em milímetros. O tubo de polietileno acoplado à micropipeta teve sua extremidade liberada. As medições foram realizadas após trinta minutos ou até a bolha atravessar 50 mm na micropipeta. Concluíram que os dentes do grupo 1 apresentaram altos índices de infiltração, não havendo diferença estatística significante entre os outros grupos.

Wu et al. (2003) usaram o método da filtração de fluido para avaliar a infiltração, nos dois terços coronários de obturações realizadas em sessenta incisivos inferiores extraídos, divididos em três grupos. As coroas foram removidas, permanecendo 12 mm das raízes. Os canais foram instrumentados até uma lima #40 a 1 mm aquém do vértice radicular. Obturaram os canais com três técnicas diferentes: condensação lateral, compactação vertical da guta-percha aquecida e técnica do cone único. Usaram o cimento RoekoSeal Automix. Os dentes foram preparados e acoplados no sistema acorde Wu et al.1993 e Wu et al. 2001. A pressão usada no sistema foi de 0,3 atm. O volume do movimento do fluido foi medido em 1, 3 e 5 horas após as obturações. Concluíram que a técnica da compactação vertical apresentou maiores índices de infiltração, não havendo diferença estatística significante entre as outras técnicas.

Orucoglu, Sengun e Yilmaz (2005) analisaram a infiltração apical em 51 pré-molares extraídos com canais únicos, obturados com a técnica da condensação lateral da guta-percha com três cimentos endodônticos: AH Plus, Diaket e EndoRez. Seis dentes foram utilizados como grupos controle positivo e negativo e os demais separados em três grupos iguais. Para a análise usaram um método de filtração de

fluido já relatado por Derkson, Pashley e Derkson (1986), porém com algumas modificações. Utilizaram um sistema computadorizado para medir o deslocamento da bolha, assim como um programa para o tratamento dos resultados. Adaptaram um manômetro digital ao cilindro contendo oxigênio, ajustado a uma pressão constante de 1,2 atm. Concluíram que este método foi simples e confiável para medir infiltrações. Os resultados mostraram que o cimento Diaket apresentou menor grau de infiltração quando comparado aos demais.

Este mesmo método foi usado por Cobankara et al. (2006), para a análise da infiltração apical em quarenta dentes anteriores extraídos, obturados com a técnica da condensação lateral da guta-percha e quatro cimentos endodônticos (Rocanal2, AH Plus, Sealapex e RC Sealer). Os dentes tiveram suas coroas removidas e os canais preparados até um instrumento #55. As análises foram realizadas nos períodos de 7, 14 e 21 dias. Como resultados, obtiveram que a infiltração diminuía com o decorrer do tempo e que o cimento Sealapex apresentou menor grau de infiltração em comparação aos demais cimentos.

Monticelli et al. (2007) verificaram a capacidade seladora de três sistemas de obturação dos canais radiculares: compactação vertical da guta-percha aquecida e cimento AH Plus (grupo controle), sistema ActiV GP e GuttaFlow. Quarenta e dois dentes unirradiculares tiveram suas coroas removidas com manutenção de 17 mm das raízes. Os canais radiculares foram ampliados até um instrumento #40/06. Seis dentes foram utilizados como grupos controle positivo e negativo. Para a avaliação da infiltração realizaram algumas modificações no sistema de filtração de fluido proposto por Derkson, Pashley e Derkson (1986). Uma cavidade com 2 mm de profundidade na porção coronária da raiz foi confeccionada, para que 1 mm de uma agulha 18 de aço inoxidável ligada ao sistema (plexiglass), pudesse ficar sem

contato com a obturação, evitando um entupimento da agulha, o que poderia gerar falsos resultados. As raízes unidas ao plexiglass eram conectadas a um tubo de polietileno. Utilizaram nitrogênio com uma pressão de 10 psi. As medições foram realizadas com um sistema computadorizado de luz infravermelha. Após cada medição, os dentes eram retirados do sistema e porções de 3 mm apicais das raízes eram removidas e as medições refeitas até a remoção de 12 mm. Não encontraram diferenças significativas entre as técnicas.

Pelliccioni et al. (2007) compararam a microinfiltração em obturações retrógradas realizadas com MTA misturado com água e somente em pó, sem hidratação. Quarenta e quatro dentes unirradiculares tiveram suas coroas removidas e os canais ampliados até um instrumento #45. Obturaram os canais com a técnica da condensação lateral da guta-percha sem cimento, com o objetivo de promover apenas um anteparo para as retroobturações. Com broca diamantada em alta rotação foram removidos 3 mm apicais das raízes e com sistema ultra-sônico realizaram as cavidades retrógradas com 3 mm de profundidade. Quatro dentes foram usados como grupos controle positivo e negativo. Vinte cavidades foram seladas com MTA conforme as recomendações do fabricante e as demais somente com o pó do MTA. Para a avaliação da infiltração utilizaram o método da filtração de fluido descrito por Derkson, Pashley e Derkson (1986). Avaliaram em 24 horas, 1, 2, 4, 8 e 12 semanas após as retroobturações. Cada amostra foi medida durante três minutos, três vezes consecutivas. Não encontraram diferenças estatísticas significantes entre os grupos e concluíram que a ausência de água na manipulação do material não afetou a capacidade seladora do MTA, *in vitro.*

Raina et al. (2007) avaliaram a qualidade do selamento apical, pelo método da filtração de fluido, em 22 canais radiculares de dentes anteriores extraídos,

quando obturados com o sistema Epiphany ou guta-percha com cimento AH Plus. As coroas foram removidas, os canais instrumentados com o sistema rotatório K3 e obturados com a técnica da condensação vertical do material obturador aquecido. As raízes foram adaptadas a uma plataforma de plexiglass do sistema de avaliação. Acoplaram uma micropipeta em tubos de polietileno para complementar o sistema. Introduziram uma bolha de 1 a 2 µL e aplicaram pressão de 10 psi de gás nitrogênio. Após 5 minutos o movimento da bolha foi anotado em milímetros e convertida em µL/min. Removeram o corpo de prova e seccionaram 3 mm da porção apical da raiz e repetiram os testes após cada milímetro seccionado até permanecer 11 mm de um total de 17 mm do comprimento inicial da raiz. Dois dentes com os canais sem preenchimento compuseram o grupo controle positivo. Os resultados não mostraram diferenças significativas entre os grupos.

Silva Neto et al. (2007) analisaram a infiltração coronária em 64 pré-molares extraídos que tiveram suas coroas removidas e os canais obturados com um cone único de guta-percha e diferentes cimentos endodônticos (AH 26, AH Plus, Endo REZ e um cimento experimental MBP). Os canais foram instrumentados com uma associação dos sistemas de rotação contínua GT e Profile e separados em quatro grupos iguais de acordo com o cimento obturador utilizado. Quatro raízes foram utilizadas com grupos controle positivo e negativo. Para medir as infiltrações utilizaram o método da filtração de fluido descrito por Derkson, Pashley e Derkson (1986) e adaptado por Wu et al. (1993). Utilizaram pressão de 10 psi e avaliaram as amostras em 15, 30 e 60 dias após as obturações dos canais radiculares. Os resultados mostraram que aos 15 dias os cimentos AH Plus e MBP produziram menores médias de infiltração que os cimentos AH 26 e Endo REZ. Aos 30 dias o cimento AH 26 apresentou as maiores médias de infiltração quando comparado aos

outros cimentos. Aos 60 dias o cimento MBP e AH Plus apresentaram as menores médias de infiltração, com diferença significante em relação ao cimento Endo REZ.

2.2 Métodos que utilizam corantes

Goldman, Simmonds e Rush (1989) avaliaram se o método de remoção do ar retido no canal radicular, por meio de uma bomba de vácuo, poderia proporcionar resultados mais significativos no método de avaliação de infiltração por penetração de corantes. Na primeira parte da pesquisa utilizaram noventa dentes unirradiculares, cujos canais foram alargados até o forame apical, com um instrumento #70. Separaram as amostras em seis grupos com quinze em cada. No grupo A1 o forame foi deixado aberto e a cavidade de acesso coronária foi selada com cimento de óxido de zinco e eugenol. No grupo A2 o forame foi selado com óxido de zinco e eugenol e a cavidade de acesso deixada aberta. Os canais dos dentes do grupo A3 tiveram suas duas extremidades mantidas sem selamento. A superfície externa radicular de todas as amostras foi impermeabilizada com duas camadas de esmalte de unhas. Imergiram todas as amostras em solução de cristal violeta (durante três horas) da seguinte maneira: cinco amostras de cada grupo foram imersas com a abertura apical para cima, outras cinco com a abertura apical para baixo e as últimas cinco amostras permaneceram imersas horizontalmente. As amostras dos grupos B1, B2 e B3 foram preparadas da mesma maneira, entretanto foram submetidas ao vácuo durante dez minutos previamente à imersão no corante (durante três horas). Na segunda parte da pesquisa, avaliaram se apenas um

pequeno defeito criado na guta-percha, proporcionaria resultados diferentes dos encontrados nos grupos A e B, onde todo o canal radicular permaneceu vazio. Utilizaram vinte dentes unirradiculares, cujos canais foram instrumentados da mesma forma descrita na primeira fase da pesquisa. Um fio ortodôntico metálico com aproximadamente 0,35 mm de diâmetro foi mantido no canal radicular, durante a obturação, ultrapassando as duas extremidades. A obturação dos canais foi realizada com a condensação lateral da guta-percha e cimento Roth. As amostras foram armazenadas por 72 horas e então o fio ortodôntico foi removido e a patência das duas aberturas avaliada por um instrumento #08. Selaram a cavidade de acesso com Cavit. Separaram as amostras em dois grupos com dez em cada. As amostras do grupo C tiveram as aberturas apicais voltadas para baixo e imersas em solução de cristal violeta 1% durante três horas. As amostras do grupo D foram preparadas da mesma forma, mas previamente à imersão no corante, foram submetidas ao vácuo. Os resultados mostraram uma penetração total do corante nas amostras em que o vácuo foi utilizado. Nos grupos em que não houve a ação do vácuo, o corante não penetrou totalmente, com grandes variações nos resultados. No grupo em que a amostra foi colocada horizontalmente e com as duas extremidades abertas, o ar ficou retido no terço médio da raiz, não permitindo uma penetração total pelo corante. Concluíram que os estudos de infiltração com corantes, que não consideram relevante a presença de ar retido no interior dos canais, não são considerados confiáveis.

Kersten e Moorer (1989) avaliaram a infiltração de pequenas partículas e moléculas em obturações endodônticas. Utilizaram 9 mm apicais das raízes de quarenta e seis incisivos centrais e caninos superiores, cujos canais foram ampliados até um alargador #120. Os espécimes foram montados em um aparato

para a análise da infiltração e separados em quatro grupos com dez em cada e um grupo com seis (controle). Os canais dos espécimes do grupo 1 foram preenchidos por um segmento de 9 mm de um cone de guta-percha #120 com pressão vertical, sem cimento. Para o grupo 2 realizaram o mesmo procedimento, mas acrescentaram o cimento AH26. Nos grupos 3 e 4 introduziram o cone #120, sem pressão vertical e cortaram deixando apenas os 2 mm apicais no interior dos canais. Realizaram uma condensação vertical. Não usaram cimento para o grupo 3 e o cimento AH26 foi usado no grupo 4. Imediatamente após as obturações, colocaram na porção coronária dos espécimes 0,25 mL de uma suspensão contendo 1mg/mL de látex, 4 µg/mL de endotoxina, 0,5% de ácido butírico, 0,1% de ácido valérico e 0,1% de solução de azul-de-metileno (pH 7). Na porção apical do aparato havia um reservatório contendo 0,15 mL de solução aquosa de 0,1% de ácido valérico (pH 7). As partículas de látex tinham um diâmetro de 0,945 µm, aproximadamente o tamanho de uma bactéria. O ácido butírico é um produto bacteriano tóxico aos tecidos e o ácido valérico serviu como um padrão interno para a avaliação do ácido butírico pela cromatografia gasosa. Os espécimes ficaram nestas condições por uma semana. As amostras coletadas da porção apical (0,5 µL) foram separadas em três porções iguais e analisadas por três diferentes métodos para a identificação das substâncias. Para a análise da presença das partículas de látex utilizaram um contraste e microscopia com uma ampliação de 790 vezes. Na identificação dos ácidos butírico e valérico foi utilizada a cromatografia gasosa e a mesma amostra foi analisada por espectrofotometria no ultravioleta para a verificação da presença do corante. Um teste para a identificação de toxinas foi utilizado para a identificação da endotoxina. Os resultados apontaram para os menores índices de infiltração quando utilizaram guta-percha associada ao cimento endodôntico e pressão vertical. A

infiltração do corante azul-de-metileno foi semelhante à do ácido butírico. Concluíram que a infiltração por estas pequenas partículas não pode ser evitada, independente da técnica de obturação utilizada.

Spangberg, Acierno e Cha (1989) investigaram se a presença de ar retido nos espaços do canal radicular poderia influenciar na penetração do corante, nos estudos de infiltração. Utilizaram as raízes palatinas de trinta e nove molares superiores extraídos. Seccionaram os 2 mm apicais de cada raiz, onde obtiveram espécimes com o comprimento variando entre 5,5 e 7,5 mm. Os canais foram preparados até um instrumento #100 e obturados com o cimento AH26. Um fio ortodôntico foi introduzido no canal radicular obturado e removido após o endurecimento do material obturador, originando um espaço vazio. Os espécimes foram divididos em três grupos. As raízes dos dois primeiros grupos foram imersas em solução de azul-de-metileno 2% durante sete dias, diferenciando-se no diâmetro dos espaços, 0,28 mm e 0,51 mm, respectivamente. Previamente à obturação, os espécimes do terceiro grupo foram submetidos a uma liofilização, visando-se eliminar a umidade residual. Confeccionaram espaços com 0,28 mm de diâmetro no material obturador. Colocaram os espécimes em uma câmara com solução de azul-de-metileno 2% em base de glicerol. Visando a eliminação do ar retido no interior dos espaços, utilizaram o vácuo, aplicando uma pressão absoluta de 100 mtorr durante 15 minutos. Após o tempo experimental, mediram a profundidade de penetração do corante. Os resultados mostraram que a penetração passiva do corante foi incapaz de preencher completamente os espaços, independente do diâmetro. A utilização do vácuo resultou em um completo preenchimento destes espaços, pelo corante. Concluíram que o ar retido pode mascarar os resultados

obtidos pela penetração passiva do corante e ressaltam a importância do uso do vácuo nestes estudos.

Kuçukay, Kuçukay e Bayirli (1993) avaliaram a influência da imersão imediata ou mediata e aplicação ou não de centrifugação dos espécimes submetidos ao teste de infiltração pela tinta da Índia. Utilizaram as raízes de oitenta e quatro dentes unirradiculares extraídos, cujos canais foram ampliados pelo menos até um instrumento #40 e obturados com a técnica da injeção da guta-percha plastificada e cimento CRCS. Separaram as raízes em quatro grupos com vinte em cada. Quatro raízes adicionais constituíram os grupos controle. Os espécimes do grupo A foram mantidos em 100% de umidade por 72 horas, antes da imersão pela tinta. Desta mesma forma, porém com aplicação de centrifugação (20 minutos) previamente a imersão, foram tratados os espécimes do grupo B. Os espécimes do grupo C foram imersos imediatamente após as obturações e os do grupo D foram submetidos imediatamente à centrifugação (20 minutos) e imersão pela tinta. Os resultados não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre todos os grupos.

Starkey, Anderson e Pashley (1993) verificaram o efeito do pH do corante azul-de-metileno 2% no estudo de infiltração apical. Utilizaram oitenta e quatro raízes com canais únicos, divididas em seis grupos com dez cada. Quatro espécimes adicionais para cada grupo constituíram os grupos controle. Os canais foram ampliados até um instrumento #50 e obturados com a técnica da condensação vertical da guta-percha aquecida e cimento Pulp Canal Sealer. Seccionaram 2 mm dos ápices radiculares e confeccionaram retrocavidades com 3 mm de profundidade. Dividiram os espécimes de cada grupo em dois subgrupos, quanto ao material a ser inserido nas cavidades (amálgama sem aplicação de verniz ou TERM). Os espécimes foram imersos em soluções do corante variando-se o pH (1, 2, 3, 5, 7) e

um grupo adicional onde uma solução de corante não tamponado foi preparada com água deionizada (pH 6.45). Os espécimes foram submetidos ao vácuo por 15 minutos. Os resultados mostraram os menores índices de infiltração para os grupos com pH 1 e 2, selados com o amálgama. Os demais grupos não apresentaram diferenças estatísticas significantes relacionadas com o pH. O material TERM apresentou menores índices de infiltração frente ao amálgama. Observaram uma dissolução dos ápices radiculares expostos, nos grupos onde o corante utilizado apresentava pH igual ou abaixo de cinco.

Wu e Wesselink (1993) realizaram uma revisão de literatura sobre os estudos de infiltração endodôntica, publicados entre 1980 e 1990. O método mais utilizado foi o da penetração linear de corantes entre o material obturador e as paredes do canal radicular. Em quase todos os estudos, a técnica da condensação lateral da guta-percha foi utilizada. Observaram uma grande quantidade de variáveis apesar da similaridade dos métodos experimentais utilizados. Dentre elas a experiência e a habilidade do operador, tempo para a imersão das amostras em corante após as obturações, períodos de análise, presença ou ausência do magma dentinário e presença de líquido ou ar nos espaços a serem avaliados. Destacaram ainda as variações nos agentes traçadores utilizados como: vários tipos de corantes ou radioisótopos, diferentes tamanhos moleculares, alterações iônicas, pH e reatividade química. Concluíram que os estudos de infiltração deveriam seguir algumas normas para uma melhor padronização: utilização de dentes com comprimentos e anatomia similares, controle da patência e do diâmetro do forame após a instrumentação, preferência para a obtenção de dados volumétricos quantitativos, remoção de fluidos ou ar retido nos espaços a serem avaliados e o pH do agente traçador deverá ser

conhecido. Sugerem também que a infiltração no sentido coroa-ápice é mais relevante que no sentido inverso.

Kontakiotis, Georgopoulou e Morfis (2001) investigaram a influência da hidratação dos espaços em obturações radiculares, na capacidade de penetração do corante azul-de-metileno. Utilizaram as raízes de oitenta incisivos centrais superiores extraídos, cujos canais foram ampliados até um instrumento #50. A obturação foi realizada com a técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento Tubli-Seal. Mediram a infiltração das amostras com o método da filtração de fluido (WU et al. 1993) e classificaram em muita, pouca ou nenhuma infiltração. As amostras que apresentaram pouca ou nenhuma infiltração constituíram o grupo 1 e as que apresentaram muita infiltração foram separadas em dois grupos (2 e 3). As amostras do grupo 2 foram recolocadas no aparato de filtração de fluido durante três horas, sob pressão constante, para que os espaços nas obturações ficassem repletos com água. Realizaram o mesmo procedimento para o grupo 3, mas sem água no aparato, apenas ar, para remover a umidade nos espaços. Imergiram a parte coronária de todas as amostras em azul-de-metileno 2% (pH 7), por 24 horas e avaliaram a penetração do corante. Os resultados mostraram uma maior penetração do corante nas amostras do grupo 3 e sem diferença estatística significante entre os dois outros grupos. Concluíram que o corante azul-de-metileno penetrou com maior facilidade em espaços secos e em menores proporções quando a umidade esteve presente.

Oliver e Abbott (2001) relacionaram o sucesso clínico com o método de infiltração pelo uso de corante. Selecionaram dentes de pacientes cujos canais radiculares foram tratados há pelo menos seis meses e tinham a indicação de extração. Coletaram as seguintes informações a respeito de cada caso: idade e sexo

do paciente, tempo do tratamento de canal (se conhecido), razão da extração, cimento e material usado na obturação (se conhecido), radiografias prévias às extrações e quando da realização do tratamento endodôntico (se disponíveis) e outras informações que pudessem ser relevantes. Classificaram os tratamentos como tendo sucesso ou insucesso, baseando-se nos exames clínico e radiográfico. Imediatamente após as extrações, armazenaram os dentes em solução salina contendo 0,02% de timol. Com o auxílio de um estereomicroscópio (12 x), eliminaram da pesquisa os dentes que apresentassem fratura radicular ou presença de cirurgia apical. Radiografaram os espécimes com duas angulações para se determinar o número de canais de cada raiz e se as obturações estavam em um limite apical de pelo menos 2 mm aquém do forame, caso contrário, os dentes eram eliminados da pesquisa. Selecionaram 116 dentes (seccionaram as coroas), totalizando 180 raízes e 208 canais. Dez raízes sem a presença de material obturador foram preparadas até um instrumento #45 e os 3 mm coronários de cada raiz foram preenchidos com Cavit. Separaram estes espécimes em dois grupos com cinco em cada, constituindo os grupos controle. Todos os espécimes foram colocados em um recipiente contendo solução de corante azul-de-metileno 2% (pH 7), submetidos ao vácuo durante cinco minutos e deixados submersos em corante de modo passivo, durante sete dias. Os resultados mostraram que 99,5% dos espécimes apresentaram a penetração do corante. Radiograficamente 82 espécimes apresentavam-se com sucesso, enquanto que 126 foram classificados como insucesso. Concluíram que a penetração do corante não é um indicador confiável de sucesso clínico ou fracasso na terapia endodôntica.

Susini et al. (2006) verificaram a relação entre a presença de radiolucidez apical, *in vivo*, e a penetração de corante, *ex vivo*, nos mesmos dentes humanos.

Selecionaram 84 dentes humanos unirradiculados que foram radiografados em duas angulações. Separaram em dois subgrupos. As obturações dos canais do grupo 1 (n=52) apresentavam-se com boa densidade, sem espaços e até 2 mm aquém do vértice radiográfico. A presença de porosidades, espaços e limite maior que 2 mm aquém do vértice, caracterizavam as amostras do grupo 2 (n=32). Classificaram os dentes de acordo com a presença ou não de radiolucidez apical. Os dentes foram extraídos e imersos em corante azul-de-metileno 0,5% (pH 7) sob pressão negativa. O vácuo foi aplicado durante 10 minutos e submergiram novamente em corante, nestas condições, pelo mesmo tempo. Transferiram as amostras para pequenos frascos contendo corante, sob pressão atmosférica normal, onde permaneceram por uma semana. Lavaram as raízes em água corrente por 30 minutos e colocaram cada amostra em frascos separados, contendo ácido nítrico, por três dias. Após a dissolução das raízes, centrifugaram os frascos para separar o corante extraído da guta-percha e componentes orgânicos. Mediram a quantidade de corante para cada amostra pela espectrofotometria. Os resultados mostraram que o método do corante obteve uma correlação estatística significante com a qualidade da obturação. Entretanto, houve uma baixa correlação entre o método e a presença de imagens radiolúcidas na região apical. Concluíram que os estudos com corantes podem fornecer resultados quanto à qualidade da obturação, mas não quanto ao sucesso.

Ferreira, Bombana e Sayeg (2008) analisaram a penetração do corante azul-de-metileno (0,5%, pH 7.0), variando-se os diferentes métodos de impregnação. Utilizaram sessenta caninos extraídos, cujas coroas foram removidas, permanecendo 17 mm das raízes. Os canais foram preparados até um instrumento #45 e a superfície externa das raízes impermeabilizadas com duas camadas de esmalte de unhas. Com uma agulha, inserida quase até o comprimento de trabalho,

os canais dos espécimes do grupo 1 foram preenchidos com o corante e submetidos a ação de uma lima #15 ultra-sônica durante 10 minutos. Os espécimes do grupo 2 tiveram os canais preenchidos com o azul-de-metileno e as raízes submersas em um recipiente de vidro contendo o corante. Colocaram o recipiente em uma cuba ultra-sônica e submeteram à vibração ultra-sônica durante 10 minutos. Os espécimes do grupo 3 tiveram os canais preenchidos pelo azul-de-metileno da mesma maneira. Os espécimes do grupo 4 foram inseridos em um aparato de vácuo calibrado (25 mmHg) por 10 minutos. Os canais foram preenchidos pelo corante do mesmo modo. Após estas etapas, todos os espécimes destes grupos permaneceram imersos em corante por 24 horas. Os espécimes do grupo 5 foram preparados do mesmo modo que no grupo anterior e ficaram submetidos ao vácuo calibrado (650 mmHg) durante 24 horas. Para o grupo 6 os espécimes foram submetidos ao vácuo calibrado (30 mmHg) pelo mesmo período e condicionados com o corante, de modo semelhante aos demais grupos. Após o período experimental, lavaram os espécimes com água corrente e irrigaram com água destilada. Clivaram as raízes e as imagens realizadas foram ampliadas (x10) e avaliadas. Os resultados mostraram que no terço cervical, a penetração do corante foi mais efetiva quando da aplicação do vácuo (30 mmHg) em comparação ao sistema ultra-sônico e ao vácuo (25 mm Hg). No terço apical não houve diferenças estatísticas significantes entre os grupos. Em comparação aos diferentes terços da raiz, encontraram diferenças entre o cervical e o apical, o médio e o apical e não houve diferenças entre o terço médio e cervical. Concluíram que a aplicação do vácuo ou do sistema ultra-sônico, não é necessária nos estudos de infiltração pela penetração do corante azul-de-metileno.

2.3 Métodos que utilizam microorganismos

Torabinejad, Ung e Kettering (1990) determinaram o tempo necessário para a penetração bacteriana em canais obturados e expostos a dois tipos de bactérias: *Staphylococcus epidermidis* ou *Proteus vulgaris.* Utilizaram quarenta e cinco incisivos superiores extraídos, cujos canais foram preparados até um instrumento #40. A obturação foi realizada com a condensação lateral da guta-percha e cimento Roth's. Separaram os espécimes em dois grupos experimentais (n=16), dependendo do tipo da bactéria utilizada e dois grupos controle. Os resultados mostraram que mais de 50% dos espécimes expostos ao *Staphylococcus epidermidis* estavam completamente contaminados após 19 dias e 88% após 30 dias. Após 42 dias, 50% dos espécimes expostos ao *Proteus vulgaris* apresentavam-se contaminados e 85% após 66 dias. Concluíram que o modelo experimental utilizado foi estático, comparando-se com as condições clínicas e que para facilitar o tratamento dos dados utilizaram apenas dois tipos de bactérias. E que em função destas limitações e seus possíveis efeitos nos resultados, este tipo de metodologia, *in vitro*, merece mais investigação.

Trope, Chow e Nissan (1995) investigaram a penetração da endotoxina bacteriana em canais radiculares obturados. Utilizaram vinte e quatro dentes unirradiculares extraídos, cujas coroas foram removidas e os canais preparados até no mínimo um instrumento #40. Separaram os espécimes em um grupo experimental (n=16), onde os canais foram obturados com a condensação lateral da guta-percha e cimento Roth's 801 e dois grupos controle (n=4 em cada). Adaptaram todas as amostras em um aparato para a avaliação da infiltração por uma

endotoxina extraída da bactéria *Actinobacillus actinomycetemcomitans,* durante 21 dias. Os resultados mostraram que aproximadamente 30% dos espécimes apresentavam-se contaminados, após o período experimental.

Shipper et al. (2004) avaliaram a infiltração bacteriana em obturações realizadas com guta-percha e Resilon, usando o *Streptococcus mutans* e o *Enterococcus faecalis* como agente marcador. Utilizaram os 16 mm finais de 156 dentes unirradiculares extraídos, cujos canais foram preparados com o sistema Profile e ampliados até um instrumento #40, #45 ou #50. Os espécimes foram separados em oito grupos experimentais (n=15) e três grupos controle (n=12). Os canais dos grupos 1 e 2 foram obturados utilizando a guta-percha e o cimento AH 26, com as técnicas da condensação lateral e vertical, respectivamente. As mesmas técnicas foram utilizadas para os grupos 3 e 4, porém com a guta-percha e o cimento do sistema Epiphany, como material obturador. Os espécimes dos grupos 5 e 6 foram obturados com o sistema Epiphany e as técnicas da condensação lateral e vertical, respectivamente. Os grupos 7 e 8 tiveram os canais radiculares obturados de modo idêntico aos grupos 5 e 6, porém foi usado o *E. faecalis* ao invés do *S. mutans* usado nos demais grupos. Os resultados mostraram baixos índices de infiltração para os grupos obturados com o sistema Epiphany, com diferença estatística significante para os grupos obturados com a guta-percha e o cimento AH 26, que tiveram 80% dos espécimes com infiltração. Os grupos obturados com guta-percha e cimento AH 26 ou cimento do sistema Epiphany comportaram-se de maneira semelhante. Não houve diferença entre os grupos em relação ao tipo de bactéria utilizada.

Yucel et al. (2006) compararam a penetração bacteriana em obturações realizadas com a técnica da condensação lateral da guta-percha e os cimentos AH

26, AH Plus, Sealapex e Ketac-Endo. Utilizaram os 16 mm finais de cem dentes unirradiculares extraídos, cujos canais foram preparados com o sistema Protaper. Os espécimes foram separados em quatro grupos experimentais (n=20) e dois grupos controle (n=10). Foram adaptados em um aparato para a avaliação da infiltração bacteriana. Utilizaram uma cultura com o *E.faecalis* que era renovada a cada cinco dias, durante um período de avaliação de sessenta dias. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os grupos testados.

De-Deus et al. (2006) investigaram a capacidade seladora dos cimentos endodônticos Pulp Canal Sealer, EndoREZ, Sealapex e AH Plus em duas diferentes espessuras. Utilizaram os 8 mm finais das raízes de 82 incisivos centrais superiores extraídos, cujos canais foram alargados até uma broca de Gates-Glidden #6. Com esta técnica, todos os canais apresentavam-se retos e com diâmetro de 1,5 mm. Confeccionaram trinta e seis cilindros de guta-percha com 8 mm de altura por 1,5 mm de largura, pela injeção deste material aquecido no interior de um molde metálico com o mesmo diâmetro. Do mesmo modo, confeccionaram a mesma quantidade de cilindros com 8 mm de altura por 1 mm de largura, utilizando um molde com este diâmetro. Separaram as amostras em quatro grupos (n=18) e cada grupo em dois subgrupos (n=9). Preencheram os canais com os cimentos e em quatro subgrupos inseriram os cilindros de guta-percha com 1,5 mm de diâmetro, proporcionando uma fina camada de cimento entre a guta-percha e a parede dos canais. Nos demais subgrupos, inseriram os cilindros com 1 mm de diâmetro, permanecendo uma camada de cimento um pouco mais espessa. As amostras foram montadas em um aparato para a análise da infiltração e submetidas à saliva durante um período de nove semanas. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os cimentos, nos grupos com uma fina camada de

material. Nos grupos com uma camada mais espessa os melhores resultados apontaram para o cimento AH Plus.

Baumgartner, Zehnder e Paqué (2007) avaliaram a infiltração em trinta e seis pré-molares unirradiculares extraídos, obturados com guta-percha e cimento AH Plus ou sistema Epiphany. Utilizaram a técnica de ondas contínuas de condensação. Os canais foram preparados com o sistema Profile e ampliados até um instrumento 45/04. Os espécimes foram separados em dois grupos experimentais (n=15) e dois grupos controle (n=3). Para a análise da infiltração, foram montados em um aparato contendo *E.faecalis* durante um período de cinqüenta dias. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os grupos.

Munoz et al. (2007) verificaram a infiltração bacteriana em vinte e seis pré-molares inferiores unirradiculares, obturados *in vivo,* com o sistema Real Seal ou guta-percha associada ao cimento Roth. Os canais radiculares foram preparados com o sistema K3 e após as obturações, com uma broca de Gates-Glidden #3 mantiveram apenas os 5 mm finais do material obturador. Separaram os espécimes em dois grupos experimentais (n=10) e dois grupos controle (n=6). Quarenta e oito horas após, os dentes foram extraídos. Submeteram os espécimes ao teste bacteriológico de infiltração, utilizando o *E.faecalis* durante sessenta dias. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os grupos analisados.

Fransen et al. (2008) compararam a capacidade seladora do ActiV GP e cimento de ionômero de vidro, sistema Epiphany e da guta-percha associada ao cimento AH Plus, na obturação dos canais radiculares. Utilizaram setenta e três dentes unirradiculares extraídos, divididos em três grupos experimentais (n=20) e dois grupos controle. Removeram as coroas e mantiveram os 16 mm finais das

raízes. Os canais foram preparados com um sistema de rotação contínua e alargados até um instrumento 50/06. A porção final de um Eppendorf foi removida e as raízes foram inseridas, com os ápices traspassando e adaptados nesta região. Selaram esta interface com cola e esmalte de unhas. Adaptaram este sistema em um *vial* e a interface selada do mesmo modo. Todos os espécimes foram submetidos a uma cultura de *E.faecalis* em BHI (brain heart infusion). Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os três grupos. Concluíram que o método bacteriano é relevante clinicamente, mas não permite uma análise quantitativa das bactérias que penetraram no canal radicular. E que a quantidade de bactérias que poderia levar ao insucesso é desconhecida.

2.4 Métodos que utilizam a glicose

Xu et al. (2005) propuseram um novo método quantitativo, utilizando a glicose, para a avaliação da infiltração. O método se baseia na taxa de glicose que passa através de canais radiculares obturados, que é quantificada por um espectrofotômetro. Utilizaram 15 mm das raízes de oitenta dentes ântero-superiores extraídos, cujos canais foram preparados até um instrumento #50 e a patência mantida com um instrumento #15. Os corpos de prova foram divididos em três grupos de vinte, quanto ao cimento utilizado na obturação dos canais radiculares (Pulp Canal Sealer, Sealapex e AH Plus) e dois grupos controle com dez espécimes em cada. Utilizaram a técnica da condensação lateral da guta-percha. Com um calcador aquecido, removeram a porção inicial do material obturador, permanecendo

apenas 10 mm no interior dos canais. As porções coronárias das raízes foram coladas, com cianoacrilato, à parte final de um Eppendorf. Na parte superior, confeccionaram uma cavidade e conectaram com a cola, um tubo plástico de 15 mm de comprimento, contendo aproximadamente 5,0 mL de solução de glicose no interior do tubo. Inseriram o Eppendorf com o espécime, em um recipiente de vidro com volume de 5 mL. A porção apical da raiz ficava em contato com uma solução de 1 mL de azida sódica 0,2%, onde a glicose que passava pelos canais obturados, pôde ser coletada. Mediram a infiltração pela coleta de 10 µL da solução do frasco de vidro, em intervalos de 1, 2, 4, 7, 10, 15, 20 e 30 dias após as obturações. Avaliaram a presença da glicose na solução, com o método enzimático da glicose oxidase e com o auxílio de um espectrofotômetro UV-Vis. Os resultados mostraram que os três cimentos apresentaram níveis semelhantes de infiltração em até dez dias. Após este período, os maiores índices de infiltração apontaram para o cimento Pulp Canal Sealer, não havendo diferença estatística significante entre os cimentos Sealapex e o AH Plus. Concluíram que o método permitiu uma avaliação quantitativa, sem a destruição das amostras, em vários períodos de tempo.

Shemesh, Wu e Wesselink (2006) compararam a infiltração em canais radiculares obturados com e sem a presença do magma dentinário, com duas metodologias diferentes. Utilizaram o método da glicose semelhante ao preconizado por Xu et al. (2005), porém deixaram os aparatos em um ambiente com 100% de umidade, visando eliminar a possibilidade de evaporação da solução de glicose. Avaliaram as amostras em intervalos de 8, 13, 20, 33, 40, 48 e 56 dias. Utilizaram também, o método da filtração de fluido semelhante ao proposto por Wu et al. (1993), cujas amostras foram avaliadas em 1 e 8 semanas após as obturações. Usaram 15 mm das raízes de 160 dentes unirradiculares, cujos canais foram

preparados até um instrumento #50. As amostras foram divididas em três grupos para a obturação e dois grupos controle. Os canais dos grupos 1 e 2 foram obturados com a condensação lateral da guta-percha e cimento AH 26. No grupo 1 não removeram o magma dentinário. As amostras do grupo 3 foram obturadas com o sistema Epiphany e tiveram o magma removido. Após as obturações, com o auxilio de um calcador aquecido, deixaram apenas 4 mm de material obturador nos canais radiculares. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os métodos na avaliação dos grupos 1 e 2. O método da glicose apontou maiores índices de infiltração para o grupo 3 quando comparado aos dois primeiros. O método da filtração de fluido não mostrou diferença estatística significante entre os três grupos. Os autores concluíram que o método que utiliza a glicose foi mais sensível em detectar infiltrações nos canais radiculares.

Kaya, Kececi e Belli (2007) utilizaram o método da glicose preconizado por Shemesh, Wu e Wesselink (2006), para a análise da infiltração em obturações realizadas com guta-percha ou Resilon, variando-se o cimento e a técnica de obturação. Foram utilizados 156 pré-molares inferiores extraídos, onde os canais foram preparados com o sistema Profile e ampliados até um instrumento #40. As amostras foram separadas em doze grupos experimentais (n=12) e dois grupos controle (n=6), conforme o material e a técnica de obturação: guta-percha/AH Plus/condensação lateral (G1), guta-percha/Ketac-Endo/condensação lateral (G2), guta-percha/cimento do sistema Epiphany/condensação lateral (G3), guta-percha/AH Plus/compactação vertical (G4), guta-percha/Ketac-Endo/compactação vertical (G5), guta-percha/cimento do sistema Epiphany/compactação vertical (G6), Resilon/AH Plus/condensação lateral (G7), Resilon/Ketac-Endo/condensação lateral (G8), Resilon/cimento do sistema Epiphany/condensação lateral (G9), Resilon/AH Plus/

compactação vertical (G10), Resilon/Ketac-Endo/compactação vertical (G11) e Resilon/cimento do sistema Epiphany/compactação vertical (G12). Avaliaram a infiltração nos períodos de 1, 8, 15, 22 e 30 dias com um espectrofotômetro. Os resultados mostraram que todos os canais radiculares apresentaram penetração da glicose e as combinações guta-percha/AH Plus e Resilon/cimento Epiphany apresentaram-se semelhantes quanto à infiltração.

Sluis et al. (2007) verificaram a influência da irrigação ultra-sônica passiva na qualidade das obturações endodônticas. Utilizaram o método da glicose preconizado por Xu et al. (2005) e com a modificação proposta por Shemesh, Wu e Wesselink (2006). Foram utilizados 12 mm finais das raízes de quarenta pré-molares inferiores extraídos, cujos canais foram preparados com o sistema GT até um instrumento #30/06. Os corpos de prova foram divididos em dois grupos iguais, sendo que quatro amostras compuseram os grupos controle negativo e positivo. Antes da obturação dos canais do grupo 1, a solução de hipoclorito de sódio foi ativada no interior dos canais por uma unidade ultra-sônica. A cada minuto a solução era renovada, totalizando três minutos. Os canais dos corpos de prova do grupo 2, não tiveram ação ultra-sônica. Todos os canais foram obturados com o System B e como materiais obturadores utilizaram a guta-percha e o cimento AH26. Avaliaram a infiltração em intervalos de 5, 14, 21, 37, 48 e 56 dias. Os resultados mostraram que a ação do ultra-som previamente às obturações, proporcionou os menores índices de infiltração.

Xu et al. (2007) avaliaram quantitativamente a capacidade seladora de quatro técnicas de obturação, pelo método de infiltração utilizando a glicose (XU et al., 2005). Usaram 11 mm das raízes de oitenta incisivos superiores extraídos, cujos canais foram preparados com o sistema Profile até um instrumento #40/06.

Mantiveram a patência dos canais com um instrumento #15. As amostras foram separadas em quatro grupos experimentais (n=15) e dois grupos controle (n=10). Os canais foram obturados com as seguintes técnicas: condensação lateral da guta-percha, compactação vertical da guta-percha aquecida (Touch'n Heat), Thermafil e sistema E & Q Plus. Mediram a infiltração em intervalos de 24 horas, 1, 2, 3, 5, 8 e 12 semanas após as obturações. Os resultados mostraram que a técnica da condensação lateral da guta-percha apresentou os maiores índices de infiltração, sem ocorrer diferença estatística significante entre os demais grupos. Concluíram que o método de avaliação proporcionou uma análise quantitativa da infiltração, sem destruir a amostra e em longo prazo.

Zou et al. (2007) utilizaram o método de avaliação da infiltração pela glicose, preconizado por Xu et al. (2005), para verificar a capacidade seladora do sulfato de cálcio em perfurações de furca, em sessenta molares extraídos. Os espécimes foram divididos em quatro grupos com quinze em cada e dois grupos controle. Realizaram as perfurações no centro do assoalho da câmara pulpar, com brocas de número 3 (1 mm de diâmetro) e 5 (1,5 mm de diâmetro) em alta rotação. Nos grupos 1 e 2 as perfurações foram realizadas com a broca de número 3 e nos grupos 3 e 4 com a broca número 5. Utilizaram somente resina composta no selamento das perfurações dos grupos 1 e 5 e para os grupos 2 e 3 sob a resina composta aplicaram uma camada de sulfato de cálcio. Avaliaram a infiltração em intervalos de 1, 2, 4, 7, 10, 15 e 20 dias. Os resultados apontaram para os maiores índices de infiltração, nos grupos que utilizaram somente a resina composta como material selador. Estes índices diminuíram quando o sulfato de cálcio foi usado sob a resina composta. Concluíram que o método foi simples e capaz de quantificar a infiltração, com alto grau de sensibilidade.

Ozok et al. (2008) utilizaram o método de infiltração da glicose preconizado por Xu et al. (2005) e modificado por Shemesh, Wu e Wesselink (2006), para avaliar a capacidade seladora de obturações realizadas com os cimentos AH26 (condensação lateral da guta-percha), RoekoSeal (cone de guta-percha principal e dois acessórios inseridos passivamente) e GuttaFlow. Utilizaram 14 mm das raízes de 70 pré-molares inferiores extraídos, cujos canais foram preparados pelo sistema GT até um instrumento #30/06. As amostras foram separadas em grupos iguais, dependendo da técnica de obturação e dois grupos controle. Mediram a infiltração em intervalos de 7, 14, 21 e 28 dias. Os resultados mostraram que as amostras obturadas com o sistema GuttaFlow, apresentaram os maiores índices de infiltração, não havendo diferença estatística significante entre os cimentos AH26 e o RoekoSeal.

De-Deus et al. (2008a) verificaram a capacidade seladora de obturações realizadas com a técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento Endofill, utilizando previamente o BioPure MTAD. Avaliaram com o método de infiltração da glicose preconizado por Xu et al. (2005) e modificado por Shemesh, Wu e Wesselink (2006). Utilizaram 12 mm das raízes de sessenta e quatro incisivos centrais superiores extraídos, cujos canais foram preparados até um instrumento #55 e a patência mantida com um instrumento #15. Os espécimes foram separados em três grupos iguais, de acordo com o protocolo de irrigação realizado durante o preparo dos canais radiculares, e em dois grupos com cinco em cada, compondo os grupos controle. Os espécimes do grupo 1, tiveram os canais irrigados com 1,0mL de solução de hipoclorito de sódio 5,25%, entre cada instrumento durante o preparo, sem irrigação final para a remoção do magma dentinário. Os espécimes do grupo 2, tiveram os canais irrigados da mesma maneira, entretanto com irrigação final de 5

mL de EDTA 17% (pH 7.7), durante cinco minutos. No grupo 3 realizaram a irrigação final com 5 mL de BioPure MTAD (pH 2.15), durante cinco minutos. Neste grupo os canais foram previamente irrigados com solução de hipoclorito de sódio 1,3%, como recomenda o fabricante. Avaliaram a infiltração em intervalos de 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias após as obturações. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os três protocolos de irrigação, quanto à infiltração no material obturador. Concluíram que o método da glicose foi útil na determinação quantitativa da infiltração.

Shemesh et al. (2008) verificaram a reação da glicose utilizada no método de infiltração com os seguintes materiais: cimento de Portland, MTA cinza, MTA branco, cimento Sealer 26, pó de hidróxido de cálcio, sulfato de cálcio, cimento AH26 e cimento do sistema Epiphany. Os materiais foram preparados conforme as instruções do fabricante e inseridos no interior de um molde de plástico com 2 mm de profundidade e 5 mm de diâmetro. Cones de Resilon e de guta-percha também foram adaptados nestes moldes com o auxílio de um instrumento aquecido. Dez moldes foram preenchidos com cada material. Confeccionaram ainda dez discos de dentina com dimensões semelhantes, a partir de molares extraídos. Após uma semana os materiais foram removidos dos moldes, formando pequenos discos. Cada disco foi inserido em um tubo contendo 4 mL de glicose. Após uma semana, coletaram 1 mL da solução e analisaram em um espectrofotômetro, a concentração da glicose. Os resultados mostraram que os materiais cimento de Portland, MTA, hidróxido de cálcio e o cimento Sealer 26 reagem com a glicose e não deveriam ser analisados com este método de infiltração.

2.5 Comparações dos métodos de infiltração

Amditis et al. (1992) compararam a infiltração apical em obturações realizadas com as seguintes técnicas: condensação lateral, McSpadden, ultra-som e injeção da guta-percha termoplastificada. Aplicaram três diferentes métodos de avaliação: eletroquímico, corante e radiográfico. Utilizaram quarenta e quatro dentes anteriores extraídos, que após o preparo dos canais, foram divididos em quatro grupos (n=10) em função da técnica utilizada para a obturação e quatro amostras serviram como grupos controle positivo e negativo. Usaram guta-percha e cimento ProcoSol na obturação dos canais radiculares. As amostras foram avaliadas inicialmente pelo teste eletroquímico, por um período de trinta dias. Após este período, imergiram o terço apical das raízes de todas as amostras em azul-de-metileno 2% por 48 horas, para a avaliação pelo teste com o corante. A avaliação radiográfica consistiu na realização de duas radiografias para cada amostra, ampliada em duas vezes e avaliada por dois profissionais que classificaram a imagem em bom (sem espaços nas obturações), aceitável (espaços menores que 0,5 mm) e pobre (espaços maiores que 0,5 mm). Os resultados mostraram pequenas diferenças entre os grupos quando avaliados pelo teste eletroquímico. Os resultados pelo teste com o corante foram influenciados em função da dissolução do cimento obturador, ocasionado pelo teste eletroquímico. Pequenas diferenças entre as técnicas de obturação foram observados ao exame radiográfico. Frente aos três métodos, a técnica da condensação lateral apresentou um maior número de amostras sem a presença de infiltração.

Al-Ghamdi e Wennberg (1994) realizaram uma revisão de literatura sobre os métodos de avaliação da capacidade seladora dos materiais obturadores em Endodontia. Abordaram os métodos com corantes, impregnação por nitrato de prata, isótopos radioativos, bactérias, eletroquímico e filtração de fluido. Mostraram que estes métodos para a avaliação de infiltração possuem baixa reprodutibilidade e repetitividade, não possuindo uma padronização. Sugerem ainda que sejam substituídos por outros de impermeabilidade, solubilidade, alteração dimensional e adesão entre a dentina e a guta-percha. Concluíram que seria menos complicada a realização destes testes separadamente, quando comparados aos de infiltração, e também mais fáceis de serem padronizados. E que somando todos estes resultados seria possível uma avaliação da capacidade seladora dos materiais analisados.

Wu, Gee e Wesselink (1994) compararam o método da filtração de fluido com o método de penetração de corante. Utilizaram 75 secções radiculares de incisivos superiores extraídos, com 8 mm de comprimento. Os canais foram preparados com brocas de Gates-Glidden e obturados com a técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento AH 26. Cinco canais obturados tiveram suas superfícies impermeabilizadas com duas camadas de esmalte para unhas (grupo controle negativo) e dez foram obturados com cones de guta-percha sem cimento (grupo controle positivo). As demais amostras foram divididas em três grupos: método da filtração de fluido, método da filtração de fluido com apenas passagem de ar por um período de três horas e sem exposição ao método da filtração de fluido. Então, todos os corpos de prova foram submetidos à penetração de uma solução de azul-de-metileno a 2%. Utilizaram o método de filtração de fluido proposto por Wu et al. (1993), porém com algumas modificações. Eliminaram o recipiente onde o aparato era submerso em água e adaptaram uma seringa para facilitar a introdução da bolha

de ar. Usaram uma conexão de resina acrílica com três saídas: uma para o dente, uma para a seringa e outra para o capilar de vidro. Aqueceram a conexão para permitir uma melhor adaptação destes componentes. Selaram as junções com cianoacrilato. Com o sistema repleto de água destilada e a bolha em posição, aplicaram uma pressão de 0,1 atm e mediram o seu deslocamento. As amostras montadas no aparato sem a presença do líquido, apenas do ar, sob a mesma pressão, serviram para verificar se esta pressão seria capaz de danificar o selamento radicular. Concluíram que o método da filtração de fluido foi mais sensível que a aplicação passiva de corante, em detectar espaços nas obturações. O corante penetrou em maior profundidade após a eliminação do ar retido, pela aplicação do método da filtração de fluido.

Barthel et al. (1999) compararam os métodos de corante e por bactérias, na análise da infiltração em obturações realizadas com a condensação lateral da guta-percha, variando-se os cimentos endodônticos (AH26, Ketac Endo e Roth's 801). Utilizaram os 10 mm finais das raízes de noventa e seis dentes unirradiculares, cujos canais foram preparados até um instrumento #60. As amostras foram divididas em três grupos com trinta cada, e seis constituíram os grupos controle positivo e negativo. Mantiveram a patência com um instrumento #15. Para o teste bacteriano, as amostras foram montadas em um aparato que continha a bactéria *Staphylococcus epidermidis* e avaliadas após 38 dias. No teste pelo corante foi utilizada a fucsina básica por 48 horas. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística significante entre os grupos no teste por bactérias. O teste pelo corante mostrou os maiores índices de infiltração nas amostras do grupo obturado com o cimento AH26. Concluíram não haver correlação entre os resultados proporcionados pelos dois métodos.

Gilbert, Witherspoon e Berry (2001) avaliaram a infiltração coronária em setenta canais de dentes unirradiculares, obturados com o sistema Thermafil, condensação lateral e condensação vertical da guta-percha aquecida. Utilizaram o cimento endodôntico Roth's 801. Vinte amostras compuseram cada grupo experimental, cinco amostras permaneceram com os canais vazios (grupo controle positivo) e outras cinco tiveram os canais obturados e as raízes impermeabilizadas (grupo controle negativo). Os dentes tiveram as coroas removidas e os canais instrumentados pelo sistema Profile. O magma dentinário foi removido com 3 mL de solução de EDTA 17% por trinta segundos. A infiltração coronária foi analisada pelos métodos de corante (Índia) e por bactérias (*Proteus vulgaris)*. Para cada teste avaliaram as amostras durante 21 dias. Os resultados mostraram que a técnica da condensação vertical da guta-percha, apresentou os menores índices de infiltração no teste com bactérias. No método com o corante, os grupos não apresentaram diferenças estatísticas significantes. Concluíram comparando os resultados desta pesquisa com a literatura, que todos os estudos envolvendo infiltração devem ser vistos com desconfiança. E mesmo que os pesquisadores conduzam o experimento com todo o cuidado, variações nos resultados podem ocorrer. Assim como se torna muito difícil a comparação dos resultados com os de outras pesquisas e também em determinar quais as variáveis poderiam influenciar nestes resultados.

Pommel, Jacquot e Camps (2001) compararam três métodos de avaliação do selamento apical. Utilizaram as raízes de trinta e seis incisivos centrais superiores extraídos, cujos canais foram instrumentados com o sistema Profile e obturados com três diferentes técnicas de obturação: Thermafil, condensação vertical da guta-percha aquecida e técnica do cone único. Usaram em todos os casos, um cimento à base de óxido de zinco e eugenol. As amostras foram analisadas com os seguintes

métodos, consecutivamente: filtração de fluido, eletroquímico e penetração de corante. Para o primeiro método, lançaram mão do mesmo protocolo utilizado na pesquisa anterior, neste mesmo ano. As amostras foram avaliadas 24 horas após as obturações, sob baixa pressão (15 cm H_2O). Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significante entre as três técnicas de obturação, na avaliação com o método eletroquímico. O método da filtração de fluido mostrou que a técnica da condensação vertical foi superior ao sistema Thermafil. O método da penetração da corante apontou os melhores resultados para o sistema Thermafil. Para estes dois últimos métodos, a técnica do cone único apresentou os piores resultados. Concluíram que não houve correlação entre os resultados obtidos pelos três métodos de avaliação.

Martell e Chandler (2002) utilizaram o teste elétrico e penetração de corante na avaliação da capacidade seladora de três materiais retroobturadores. Os canais radiculares de trinta e três dentes caninos extraídos foram instrumentados e obturados com guta-percha e cimento Procosol (Syntex). Com brocas de Gates-Glidden removeram a porção coronária do material obturador, permanecendo 10 mm no interior do canal. Seccionaram 3 mm apicais das raízes e realizaram retrocavidades com 3 mm de profundidade, com um sistema ultra-sônico. As amostras foram divididas em três grupos (n=10), quanto ao material retroobturador: Super EBA, IRM e MTA. Três amostras foram totalmente impermeabilizadas e serviram como grupo controle negativo. Os ápices foram imersos em sangue eqüino desfibrinado por 24 horas, lavados e colocados em solução de cloreto de potássio até a junção cemento-esmalte. Os corpos de prova foram submetidos à corrente elétrica constante e os resultados registrados durante setenta dias. Após este período os dentes foram removidos e imersos em corante azul-de-metileno a 1% por

72 horas. Os resultados mostraram que as amostras obturadas com o MTA, apresentaram um selamento superior aos outros materiais, em ambos os testes. O teste elétrico mostrou uma superioridade do Super EBA frente ao IRM e o teste com o corante não mostrou diferença estatística significante entre estes dois materiais.

Wimonchit, Timpawat e Vongsavan (2002) compararam três métodos para a avaliação da infiltração coronária em 150 dentes anteriores extraídos, cujos canais foram preparados até um instrumento #45. Os dentes foram divididos em dois grupos com sessenta em cada. O magma dentinário foi mantido intacto no primeiro grupo e nos canais do segundo grupo realizaram irrigação final com solução de EDTA 17% para a remoção do magma. Trinta dentes constituíram os grupos controle positivo e negativo. Os canais foram obturados com a técnica da condensação lateral da guta-percha e cimento AH Plus. Cada grupo experimental foi dividido em três subgrupos com 20 espécimes. Os métodos utilizados para a avaliação da infiltração foram: penetração passiva do corante, penetração do corante com aplicação de vácuo e filtração de fluido. Os resultados mostraram que o método que utilizou o vácuo teve maior penetração do corante, quando comparado com a ausência do vácuo e a filtração de fluido e que a presença ou não do magma dentinário, não teve efeito estatisticamente significante sobre a infiltração nos grupos testados.

Camps e Pashley (2003) avaliaram a confiabilidade dos estudos de penetração de corantes, comparando os métodos: clássico de penetração de corante, extração de corante e filtração de fluido como controle. Utilizaram as raízes de quarenta dentes, cujos canais foram preparados com o sistema Profile e obturados com a condensação lateral da guta-percha. Dividiram em quatro grupos em função do cimento utilizado na obturação: Pulp Canal Sealer, Sealapex, AH Plus

e Ketac-Endo. Avaliaram o selamento apical nos mesmos dentes com os três métodos, sucessivamente: método de filtração de fluido, penetração de corante azul-de-metileno 2% e um novo método onde as raízes eram dissolvidas em ácido nítrico a 65% para extrair o azul-de-metileno, antes de se efetuar a leitura da solução. No método da filtração de fluido, as raízes foram adaptadas a um tubo de silicone amolecido, de 3 mm de diâmetro e a interface selada com cola de cianoacrilato. O tubo de silicone foi conectado a um capilar, de 0,7 mm de diâmetro, preenchido com solução salina fosfato tamponada contendo penicilina, estreptomicina e um fungicida. Introduziram uma bolha no capilar e aplicaram uma pressão de 15 cm H_2O, originada pela manutenção de uma via preenchida com a solução, 15 cm mais alta que o capilar, aberta à atmosfera. Para a medição da infiltração, usaram um sistema de luz infravermelha que transmitia os dados da movimentação da bolha a um computador, onde os resultados eram processados. Avaliaram as amostras 24 horas após as obturações. Os resultados mostraram que a técnica clássica de penetração de corantes, não apontou diferença entre os cimentos e não apresentou uma correlação com os outros dois métodos. Os métodos da filtração de fluido e extração de corante mostraram que o cimento Sealapex apresentou os maiores índices de infiltração. Concluíram que o método clássico da penetração de corante possui limitações e que os dois outros métodos estudados forneceram os mesmos resultados, mas com uma vantagem para a extração de corante por necessitar de menor tempo laboratorial.

Karagenç et al. (2006) compararam os métodos da filtração de fluido, eletroquímico, bacteriológico e corante na avaliação da infiltração em obturações de canais radiculares. Cento e quarenta dentes anteriores unirradiculares foram separados em oito grupos experimentais. Os dentes tiveram suas coroas removidas

e os canais ampliados até um instrumento #60. Os canais de quatro grupos foram obturados com o sistema Thermafil e os demais grupos com a condensação lateral da guta-percha. Seis dentes foram usados como grupos controle positivo e negativo para cada grupo. Para o método da filtração de fluido, os dentes foram adaptados a uma plataforma de plexiglass com cianoacrilato. Aplicaram pressão constante de 250 mm Hg na porção coronária em direção apical. A unidade de pressão foi conectada ao dente por um tubo de polietileno. Inseriram uma bolha em um capilar de vidro, com o auxílio de uma seringa. Mediram o movimento da bolha após quatro minutos e repetiram três vezes. Entre cada medição realizaram intervalos de cinco minutos. Estabilizaram o sistema durante quatro minutos, previamente à primeira medição. Os valores foram calculados em µL/min. Após a utilização dos testes, concluíram haver uma pobre correlação entre os métodos e que os testes *in vitro*, para a avaliação da infiltração são questionáveis.

Veríssimo e Vale (2006) realizaram uma revisão de literatura abordando os seguintes métodos para a avaliação da infiltração: corantes, filtração de fluido e bacteriano. Observaram que algumas metodologias se mostraram simples (corantes) e outras mais complexas (bactérias) de se realizar. Concluíram que existe uma falta de padronização dos métodos e que mesmo quando a mesma metodologia é utilizada, pequenas variações podem ser observadas, o que pode interferir no resultado das pesquisas.

De-Deus et al. (2008b) compararam os resultados dos métodos da extração de corante e bacteriano na avaliação da infiltração. Utilizaram oitenta incisivos inferiores extraídos, cujos canais radiculares foram preparados com o sistema K3. Dividiram os espécimes em três grupos (n=20), variando-se a técnica de obturação: condensação lateral, System B e Thermafil. Usaram como material obturador a guta-

percha associada ao cimento Endofill. Dez dentes íntegros constituíram o grupo controle negativo e dez com os canais vazios o positivo. Na avaliação pelo método bacteriano, os espécimes foram adaptados em um aparato e tiveram os 2 mm finais da raiz imersos em 3 mL de infusão cerebral estéril. Na porção superior, colocaram uma mistura de saliva com a infusão que era renovada a cada três dias. O sistema foi incubado por cem dias. Na avaliação pela extração de corante, utilizaram dez espécimes para cada grupo, que foram lavados e esterilizados pelo gás de oxido de etileno. Cada dente teve sua câmara pulpar repleta de azul-de-metileno 2% (pH 7,7), durante 48 horas. Após este período, lavaram cada espécime com água e colocaram em recipientes contendo ácido nítrico, por três dias. Centrifugaram e avaliaram a quantidade de corante presente em cada espécime, com um espectrofotômetro. Os resultados mostraram não haver diferença estatística significante entre os grupos, em ambos os métodos de avaliação. Apresentaram duas opções como justificativa frente aos resultados encontrados: que ambos os métodos apresentam baixa sensibilidade em detectar diferenças entre as técnicas de obturação e que as diferenças entre os espécimes possam ter sido muito pequenas em termos de capacidade seladora dos materiais obturadores analisados.

Souza et al. (2008) compararam os resultados de dois métodos utilizados para a avaliação da infiltração, nas mesmas amostras. Utilizaram 15 mm radiculares de cem caninos extraídos, onde os canais foram alargados até um instrumento #50. Separaram as amostras em dois grupos controle (n=10) e quatro grupos experimentais (n=20), em função do cimento endodôntico usado na obturação: AH 26, AH Plus, RSA e um cimento experimental. Utilizaram um cone de guta-percha principal e dois acessórios, sem o uso de espaçador. Com um calcador aquecido, removeram 11 mm do material obturador, permanecendo apenas 4 mm no interior

do canal radicular. Para a avaliação da infiltração utilizaram inicialmente o método da filtração de fluido, o mesmo preconizado por Wu et al. (1993) e posteriormente o método da penetração da glicose, semelhante ao utilizado por Xu et al. (2005). Os resultados mostraram índices similares de infiltração para os dois métodos.

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo a avaliação, *in vitro*, da capacidade seladora de três materiais obturadores endodônticos, pela técnica da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas, utilizando a cafeína como agente traçador.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

- Água Purificada (Milli-Q);
- Agulhas hipodérmicas;
- Brocas Gates-Glidden n°s 1, 2 e 3 de 28 mm (Maillefer – Ballaigues – Suíça);
- Cianoacrilato de etila - SuperBonder (Loctite do Brasil Ltda. - São Paulo - SP);
- Cola Poxipol – Resina Epóxica (Akapol – Buenos Aires – Argentina);
- Cones de guta-percha principal e acessórios – MFR1 (Dentsply Indústria e Comércio Ltda. - Petrópolis – Rio de Janeiro);
- Cones de papel absorvente (Dentsply Indústria e Comércio Ltda. - Petrópolis – Rio de Janeiro);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (Agilent 1100 - Agilent Technologies - Estados Unidos);
- 39 dentes unirradiculares humanos;
- EDTA-T a 17% (Danafarma - Farmácia de Manipulação - Curitiba - Paraná);
- Epiphany (Pentron – Wallingford – Estados Unidos);
- Espectrômetro de massas (API 3200 – Applied Biosystems – Canadá);
- Filmes radiográficos, reveladores e fixadores (Kodak, Brasil);
- Gerenciador de amostras (Waters 2777 - Agilent Technologies - Estados Unidos);
- Hipoclorito de sódio a 2.5% (Danafarma - Farmácia de manipulação - Curitiba-Paraná);

- Limas tipo Flexofile 1ª e 2ª séries - 21 mm (Dentsply - Maillefer, Ballaigues – Suíça);
- Luvas de látex para procedimentos;
- Micro motor e peça reta (Dabi-Atlante - Ribeirão Preto – São Paulo);
- Régua milimetrada (Dentsply – Maillefer - Ballaigues – Suíça);
- Seringa descartável de 10 ml;
- Software para aquisição dos dados (Analyst 1.4.1 - Applied Biosystems – Canadá);
- Sonda exploradora nº 5 de ponta reta (SS White Duflex - Rio de Janeiro - RJ);
- Tubo de silicone 4,0 X 8,0mm (Perfitécnica - São Paulo – SP).

4.2 Métodos

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tuiuti do Paraná (Anexo A). Foram selecionados 39 dentes unirradiculares humanos com rizogênese completa e que apresentaram canal único, sem sinais de manipulação endodôntica, após avaliação radiográfica. Os tecidos moles e cálculos aderidos à raiz foram eliminados com auxílio de curetas periodontais.

4.2.1 Instrumentação e obturação dos canais radiculares

As coroas dentais foram removidas utilizando-se um disco diamantado de dupla face em baixa rotação, sob irrigação constante, padronizando o comprimento das raízes em 12 mm.

Os espécimes foram hidratados por imersão em solução salina a 0.9% por um período mínimo de 48 horas. Com uma lima Flexofile de número 15 e na presença de solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, foi realizado o esvaziamento dos canais radiculares. O ajuste do comprimento real de trabalho foi feito por meio da inserção deste instrumento no canal, até que fosse visualizada sua extremidade justaposta ao forame apical. Recuou-se da medida obtida um milímetro, confirmando-se este comprimento em 11 mm. Foram utilizadas brocas Gates-Glidden números 1, 2 e 3 no preparo da entrada dos canais radiculares. Os canais foram ampliados até um instrumento #50, com o auxílio de um sistema automatizado de rotação alternada. Durante as manobras de instrumentação foi efetuada irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5%, cerca de 2 mL a cada troca de instrumento e ao final solução de EDTA-T 17% por 5 min e, então, finalizou-se a irrigação, novamente com o hipoclorito de sódio. Durante todo o preparo foi mantida a patência com um instrumento #15. A seguir os canais foram secos por pontas de papel absorvente. As raízes foram dispostas sobre uma lâmina de cera utilizada para a realização da impermeabilização. Foram aplicadas duas camadas de esmalte para unhas na superfície externa radicular, à exceção dos 2 mm apicais. Concluída a impermeabilização, procedeu-se a obturação dos canais radiculares utilizando a técnica da condensação lateral e três diferentes materiais obturadores: guta-percha e cimento AH Plus (GA), guta-percha e cimento Sealapex (GS) ou sistema Epiphany (GE). Para os espécimes obturados com o Sistema Epiphany, a irrigação final foi

realizada com 5 mL de solução salina a 0,9%. Após a seleção do cone principal (guta-percha ou Resilon), de acordo com o diâmetro do instrumento de maior calibre a atingir o comprimento de trabalho, procedeu-se o preparo dos cimentos endodônticos de acordo com as instruções dos fabricantes. Para os espécimes obturados com o sistema Epiphany, aplicou-se o *primer* nas paredes dos canais e removeu-se o excesso, com cones de papel absorvente. O cimento foi levado ao interior dos canais radiculares com o auxílio do cone principal, introduzindo-o até o comprimento de trabalho. Esta manobra repetiu-se até que os 11 mm finais do cone, após sua remoção do canal, estivessem repletos pelo material. A condensação lateral foi realizada com o auxílio de um espaçador digital azul (C). O primeiro cone acessório MF (guta-percha) ou M (Resilon) foi introduzido sem o uso do espaçador. Em seguida, com a utilização do espaçador próximo ao comprimento de trabalho, introduziram-se os demais cones acessórios com cimento, até que o espaçador não penetrasse mais que 2 a 3 mm. Com um calcador aquecido, 7 mm de material obturador foram removidos, permanecendo apenas 4 mm no interior dos canais, simulando o preparo para um retentor intracanal.

Os espécimes do grupo controle negativo tiveram os canais obturados com a condensação lateral da guta-percha e cimento AH Plus e as raízes completamente impermeabilizadas com duas camadas de esmalte de unhas, incluindo o orifício de entrada do canal e o forame apical. Todos os espécimes foram armazenados em solução aquosa contendo 0.1% de azida sódica (NaN_3) a 37°C durante duas semanas.

4.2.2 Modelo Experimental

O método de avaliação da infiltração utilizado foi semelhante ao desenvolvido por Xu et al. (2005), com modificações. Foram realizados dois experimentos que diferiram quanto ao modo de vedação dos espécimes em estudo.

No primeiro experimento foram utilizados 18 espécimes cujas raízes foram adaptadas a um tubo de silicone e a interface selada com cianoacrilato de etila. Para melhorar a adaptação nesta junção foi envolto um fio metálico sobre o tubo de silicone (Figura 4.1).

No segundo experimento foram utilizados 18 espécimes que foram adaptados no tubo de silicone com resina epóxi, porém sem o fio metálico. Removeu-se a porção final de um tubo de ensaio de plástico, com uma broca diamantada (3216) em alta rotação, e na porção inferior do mesmo tubo confeccionou-se uma cavidade para adaptar a porção final da raiz, fazendo com que esta traspassasse aproximadamente 2 ou 3 mm apicais. Na interface entre o espécime e o tubo, com o auxílio de um propulsor do tipo Lentulo, aplicou-se a resina epóxi vedando todo este espaço, com o objetivo de aumentar a espessura do agente de vedação (Figura 4.1). Mais três espécimes hígidos, sem a remoção da coroa dental, também foram adaptados desta maneira (grupo branco), perfazendo um total de 21 espécimes neste experimento.

Figura 4.1 – Adaptação dos espécimes dos grupos experimentais no tubo de silicone com cianoacrilato e resina epóxica

Os espécimes foram adaptados no modelo experimental para a avaliação da infiltração. O tubo de silicone com o espécime foi colocado através de uma tampa de borracha, sendo esta fixada em um recipiente de vidro contendo a solução receptora com 5.0 mL de solução de azida sódica 0.2% e 3000 ng/mL de teofilina (IS) utilizada como padrão interno, de modo que a porção apical da raiz ficasse em contato com a solução. Nesta tampa de borracha foi inserida uma agulha para a saída de ar (Figura 4.2).

Figura 4.2 – Adaptação do espécime com o tubo de silicone no recipiente de vidro

Na parte superior do tubo de silicone foi acoplada uma pipeta de vidro com solução de cafeína 2000 ng/mL contendo 0.2% de NaN_3 e 3000 ng/mL de teofilina (IS) (Figura 4.3), a uma altura de 34 cm da parte superior do espécime, no qual criou uma pressão hidrostática de 2,55 kPa (26 cm de solução).

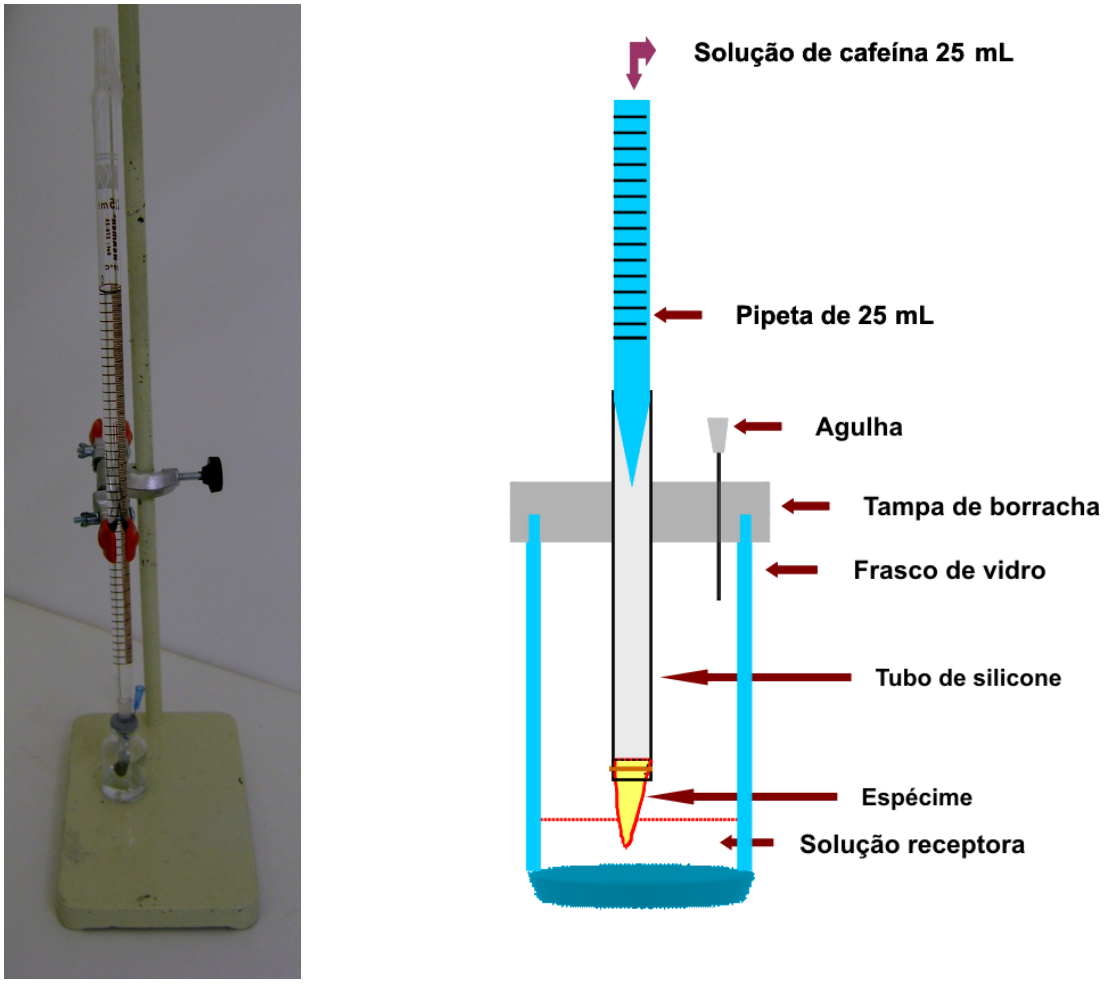

Figura 4.3 – Fotografia e desenho esquemático do modpelo experimental para a avaliação da infiltração

Uma curva de calibração foi realizada compreendendo os limites de 10 a 1800 ng/mL. Foi constituída por oito pontos e cada ponto foi realizado em triplicata. As amostras padrão foram preparadas a partir de uma solução estoque de cafeína de 200 µg/mL e 100 µg/mL de solução estoque de padrão interno. O volume final foi completado com diluente acetonitrila/água (20:80). As amostras padrão apresentaram concentração de 10, 50, 100, 200, 600, 1000, 1400 e 1800 ng/mL de cafeína, respectivamente e 3000 ng/mL do padrão interno.

Após os períodos experimentais foi coletada 1 mL da solução do recipiente de vidro de cada espécime, para a quantificação da infiltração e a mesma quantidade da solução, era reposta.

A infiltração foi quantificada por CLAE-EM/EM através da quantidade de cafeína que passou pelo material obturador em intervalos de 10, 30 e 60 dias.

4.2.3 Análise da infiltração por CLAE-EM/EM

Para a análise das amostras por CLAE-EM/EM foram utilizados um cromatógrafo líquido de alta eficiência, equipado com um gerenciador de amostras e um espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo com uma fonte de ionização por *eletrospray* (ESI) e ionização à pressão atmosférica (APCI), do centro de estudos em Biofarmácia da Universidade Federal do Paraná (Figuras 4.4 e 4.5).

Figura 4.4 – CLAE-EM/EM do Centro de Estudos em Biofarmácia (UFPR)

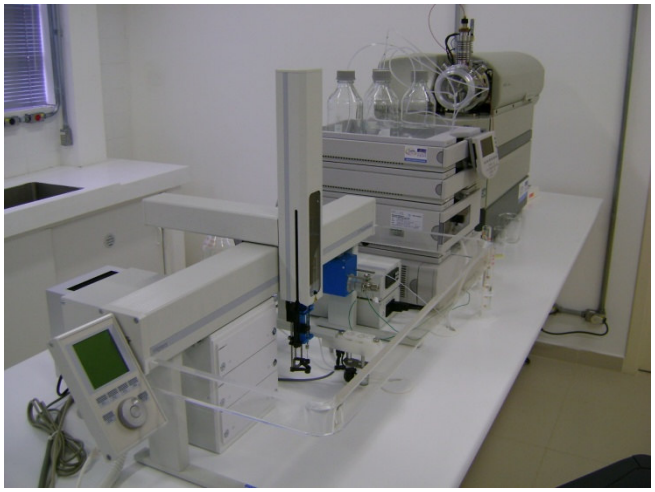

Figura 4.5 – Visão lateral do CLAE-EM/EM do Centro de Estudos em Biofarmácia (UFPR)

Uma fonte no modo de ionização positiva foi utilizada nestes experimentos. Dois canais de íon positivo no modo de monitoramento de múltiplas reações (MRM) foram usados para detectar a cafeína e o padrão interno, teofilina. Os íons produtos mais abundantes dos compostos foram de *m/z* 138 a partir do íon precursor de *m/z* 195 da cafeína e o de *m/z* 124 a partir do íon de *m/z* 181 do padrão interno. A aquisição dos dados foi obtida através de um software (Figura 4.6).

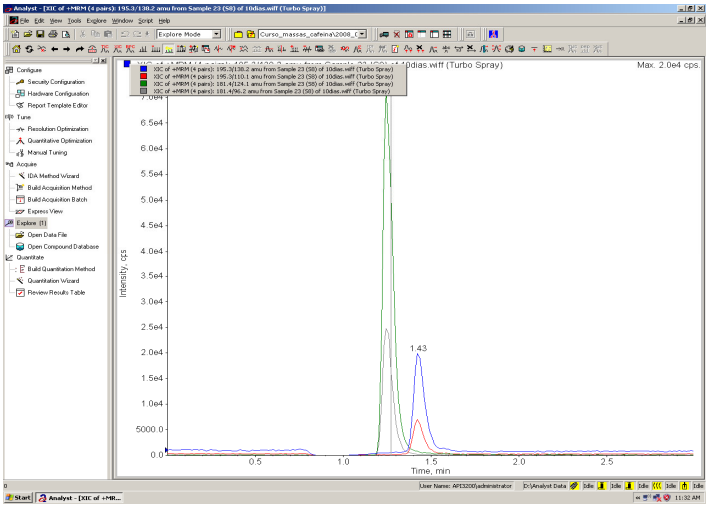

Figura 4.6 – Imagem do software durante a aquisição dos dados correspondentes à infiltração para um dos espécimes

Os experimentos foram realizados utilizando uma coluna analítica (4,6 mm x 150 mm, 5 µm) e uma pré-coluna (4,6 mm x 10 mm, 5 µm) que foi utilizada para proteger a coluna analítica.

O sistema CLAE foi operado isocraticamente a 25ºC utilizando a fase móvel acetonitrila/água (20:80, v/v) contendo 5mM de formiato de amônio. A fase móvel foi filtrada através de uma membrana com diâmetro de poro de 0,45 µm e fluxo de 0,3 mL/min na corrida das amostras. O volume de injeção foi de 20 µL para todas as amostras. As temperaturas do gerenciador de amostras e da coluna foram mantidas à temperatura ambiente.

Os espectros de massas foram conduzidos em um espectrômetro de massas de baixa resolução, do tipo triplo quadrupolo equipado com uma fonte de ionização *electrospray* (ESI). Durante todos os experimentos, a temperatura da fonte foi mantida a 450℃ e a voltagem no capilar em 5.5 kV, sob fluxo de gás secante (nitrogênio) de 200 L/h e de gás nebulizador (nitrogênio) a 15 L/h.

Para os experimentos de massas no modo positivo, o solvente usado foi 50% acetonitrila/água (50:50, v/v) contendo 5mM de formiato de amônio. Os espectros foram obtidos em modo de aquisição contínuo, em uma faixa de varredura de massas de *m/z* 80 a 300.

4.2.4 Metodologia Estatística

Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva para o resumo das informações coletadas. Foram obtidas as médias, os tamanhos de amostra e os desvios padrões. A normalidade dos dados foi testada pelo Teste de Lilliefors. Não tendo sido observada a normalidade, foram aplicados testes não paramétricos para testar as hipóteses. Para comparar os grupos experimentais, em cada período

observado, aplicou-se o Teste de Kruskal-Wallis, complementado pelo teste de comparações múltiplas d.m.s. Para comparar os períodos, para cada grupo experimental, utilizou-se o Teste de Friedman, também complementado pelo teste d.m.s. Gráficos do tipo *Box-Plot* e de linhas foram construídos para ilustrar os resultados.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

As tabelas 5.1, 5.2 e 5.3 mostram as medidas descritivas dos dados observados no primeiro experimento, correspondente à média de infiltração dos grupos experimentais e do grupo controle negativo, expressa em ng/mL e o desvio padrão nos intervalos de 10, 30 e 60 dias, respectivamente.

Tabela 5.1 – Medidas descritivas dos dados observados em 10 dias

Grupos	Média (ng/mL)	n	D.P.
Negativo	139,87	3	147,62
Epiphany	51,08	5	71,21
Sealapex	2,04	5	4,56
AH Plus	2,32	5	5,19
TOTAL	38,71	18	80,02

Tabela 5.2 – Medidas descritivas dos dados observados em 30 dias

Grupos	Média (ng/mL)	n	D.P.
Negativo	192,60	3	205,54
Epiphany	1063,20	5	789,80
Sealapex	38,16	5	29,23
AH Plus	64,28	5	69,55
TOTAL	355,89	18	599,70

Tabela 5.3 – Medidas descritivas dos dados observados em 60 dias

Grupos	Média (ng/mL)	n	D.P.
Negativo	428,33	3	180,38
Epiphany	1496,00	5	748,55
Sealapex	281,60	5	167,46
AH Plus	394,76	5	324,39
TOTAL	674,82	18	666,81

As tabelas 5.4, 5.5 e 5.6 apresentam os resultados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis para a comparação da infiltração entre os grupos em cada período experimental.

Tabela 5.4 – Teste de Kruskal-Wallis para o período de 10 dias

Grupos	n	Soma de postos	Posto médio
Negativo	3	48	16
Epiphany	5	62	12,4
Sealapex	5	30	6
AH Plus	5	31	6,2

Tabela 5.5 – Teste de Kruskal-Wallis para o período de 30 dias

Grupos	n	Soma de postos	Posto médio
Negativo	3	33	11
Epiphany	5	77	15,4
Sealapex	5	27	5,4
AH Plus	5	34	6,8

Tabela 5.6 – Teste de Kruskal-Wallis para o período de 60 dias

Grupos	n	Soma de postos	Posto médio
Negativo	3	27	9
Epiphany	5	73	14,6
Sealapex	5	31	6,2
AH Plus	5	40	8

Pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, os resultados mostraram a presença de diferença estatística entre os grupos nos períodos de 10 (p=0,0098) e 30 dias (p=0,0143) e sem diferença significativa no período de 60 dias (p=0,0744). Pela aplicação do teste d.m.s as diferenças no período de 10 dias ocorreram entre os grupos (GN e GS) e (GN e GA) e no período de 30 dias entre os grupos (GE e GS) e (GE e GA).

As tabelas 5.7, 5.8, 5.9 e 5.10 apresentam os resultados da aplicação do teste de Friedman para a comparação da infiltração nos períodos em cada grupo experimental.

Tabela 5.7 – Teste de Friedman para o grupo controle negativo

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1	3	139,87	147,62
30 dias	2	6	192,6	205,53
60 dias	3	9	428,33	180,38

Os resultados mostraram não haver diferença significativa entre os períodos (p=0,05).

Tabela 5.8 – Teste de Friedman para o grupo E

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1	5	51,08	71,21
30 dias	2	10	1063,2	789,80
60 dias	3	15	1496	748,55

Tabela 5.9 – Teste de Friedman para o grupo S

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1	5	2,04	4,56
30 dias	2	10	38,16	29,23
60 dias	3	15	281,6	167,46

Os resultados apresentaram diferenças significativas entre os períodos de 10 e 60 dias (p=0,00674), para os grupos E e S.

Tabela 5.10 – Teste de Friedman para o grupo A

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1,1	5,5	2,32	5,19
30 dias	1,9	9,5	64,28	69,55
60 dias	3	15	394,76	324,39

Os resultados mostraram diferenças significativas entre os períodos de 10 e 60 dias (p=0,00832) para o grupo A.

Todos os resultados estão expressos nos gráficos 5.1, 5.2, 5.3 e 5.4.

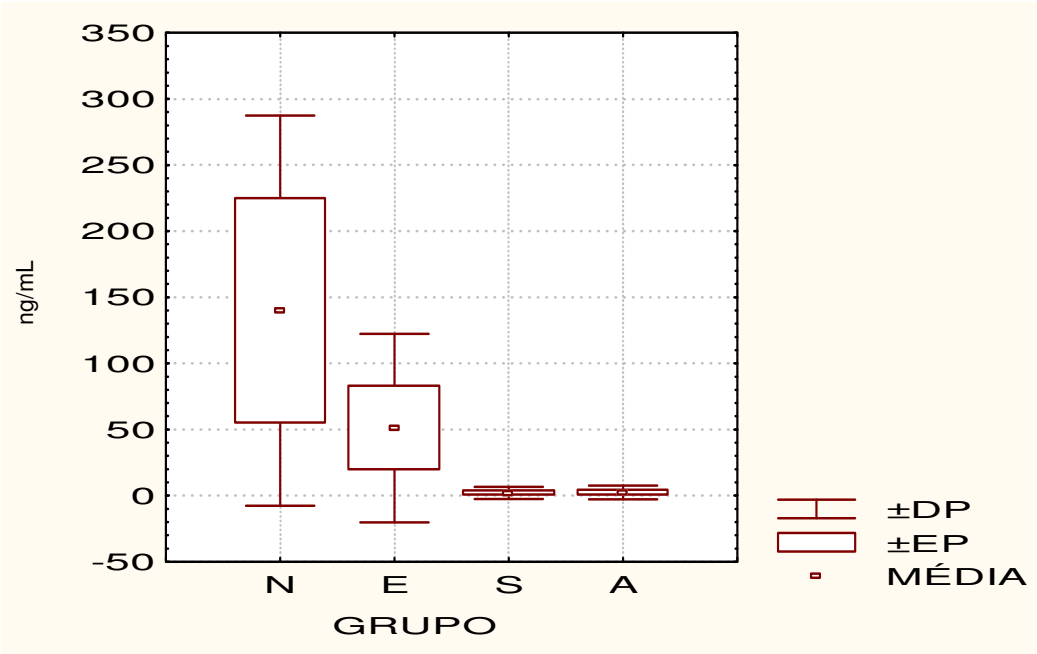

Gráfico 5.1 – Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 10 dias

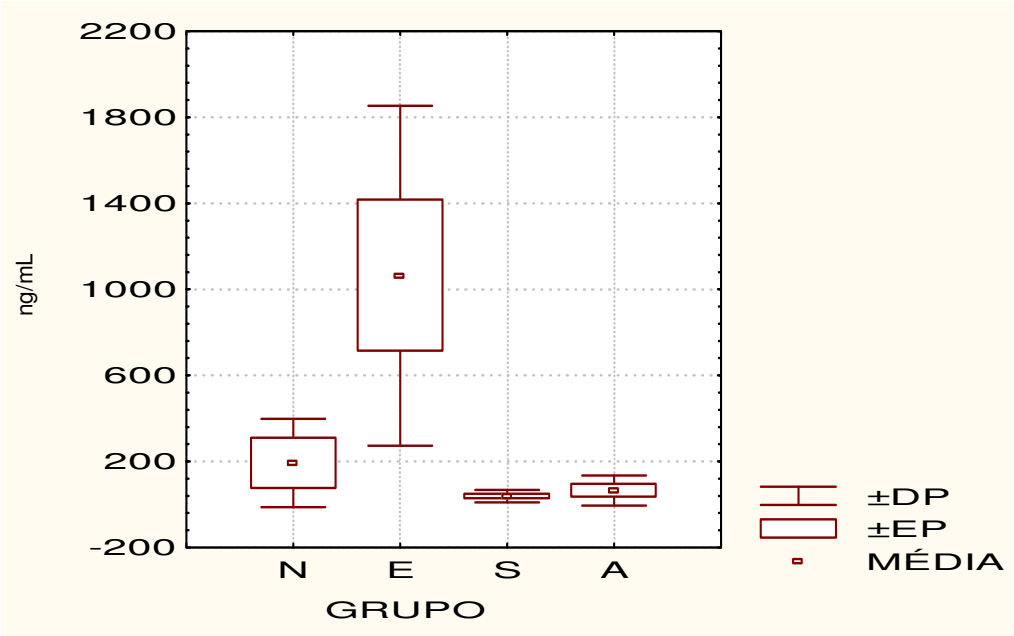

Gráfico 5.2 – Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 30 dias

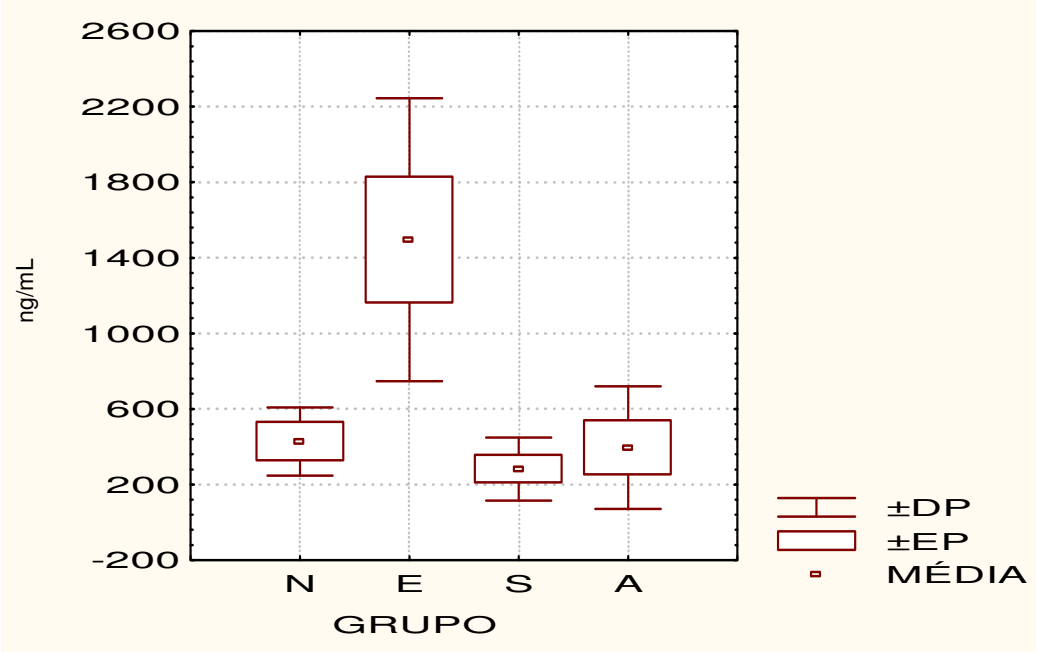

Gráfico 5.3 – Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 60 dias

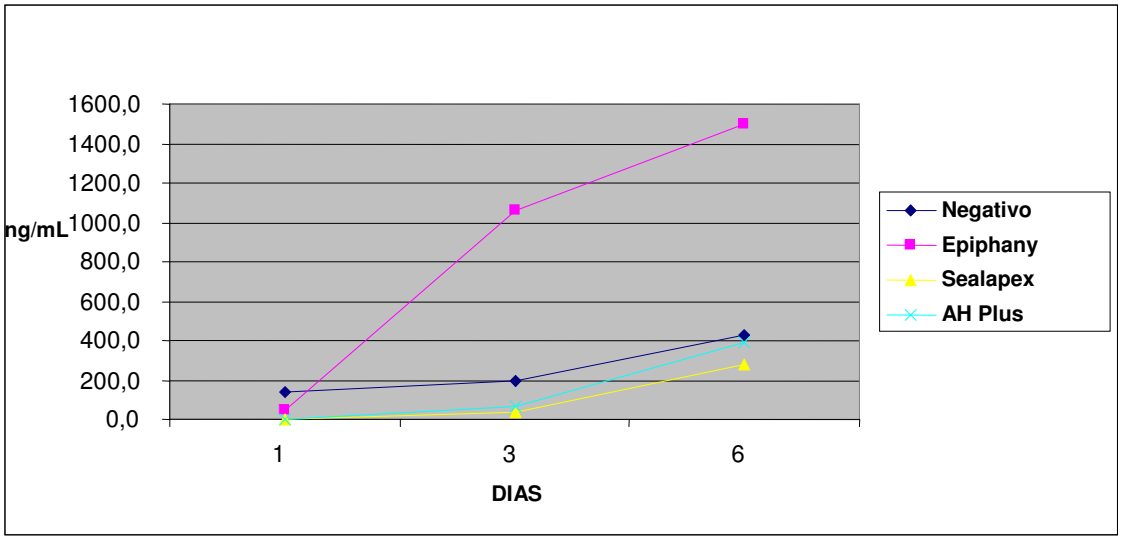

Gráfico 5.4 – Representação gráfica da evolução da penetração da cafeína nos grupos experimentais e no grupo controle negativo, nos períodos analisados

As tabelas 5.11, 5.12 e 5.13 mostram as medidas descritivas dos dados observados no segundo experimento, correspondente à média de infiltração dos grupos experimentais, controle negativo e branco, expressa em ng/mL e o desvio padrão nos intervalos de 10, 30 e 60 dias, respectivamente.

Tabela 5.11 – Medidas descritivas dos dados observados em 10 dias

Grupos	Média (ng/mL)	n	D.P.
Negativo	0,00	3	0,00
Epiphany	0,00	5	0,00
Sealapex	0,00	5	0,00
AH Plus	0,00	5	0,00
Branco	0,00	3	0,00
TOTAL	0,00	21	0,00

Tabela 5.12 – Medidas descritivas dos dados observados em 30 dias

Grupos	Média (ng/mL)	n	D.P.
Negativo	34,13	3	47,91
Epiphany	105,20	5	42,65
Sealapex	16,00	5	22,77
AH Plus	13,90	5	14,84
Branco	0,00	3	0,00
TOTAL	37,04	21	48,52

Tabela 5.13 – Medidas descritivas dos dados observados em 60 dias

Grupos	Média (ng/mL)	n	D.P.
Negativo	58,40	3	72,83
Epiphany	182,60	5	91,95
Sealapex	138,98	5	130,15
AH Plus	53,50	5	42,85
Branco	0,00	3	0,00
TOTAL	97,65	21	101,77

As tabelas 5.14 e 5.15 apresentam os resultados da aplicação do teste de Kruskal-Wallis, para a comparação da infiltração entre os grupos, nos períodos de 30 e 60 dias. Devido à falta de variabilidade nos resultados no período de 10 dias, não foi realizada esta análise comparativa.

Tabela 5.14 – Teste de Kruskal-Wallis para o período de 30 dias

Grupos	N	Soma de postos	Posto médio
N	3	33,5	11,17
E	5	93	18,6
S	5	46	9,2
A	5	45	9
B	3	13,5	4,5

Tabela 5.15 – Teste de Kruskal-Wallis para o período de 30 dias

Grupos	N	Soma de postos	Posto médio
N	3	26,5	8,83
E	5	84	16,8
S	5	66	13,2
A	5	47	9,4
B	3	7,5	2,5

Pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, os resultados mostraram a presença de diferença estatística entre os grupos nos períodos de 30 (p=0,0145) e 60 dias (p=0,0224). Pela aplicação do teste d.m.s as diferenças nos dois períodos ocorreram entre os grupos (GE e Branco).

As tabelas 5.16, 5.17, 5.18 e 5.19 apresentam os resultados da aplicação do teste de Friedman para a comparação da infiltração nos períodos em cada grupo experimental. Devido à falta de variabilidade nos resultados no grupo branco, não foi realizada esta análise comparativa.

Tabela 5.16 – Teste de Friedman para o grupo controle negativo

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1,333333	4	0	--
30 dias	2	6	34,13334	47,90724
60 dias	2,666667	8	58,4	72,82637

Os resultados mostraram não haver diferença significativa entre os períodos (p=0,1353).

Tabela 5.17 – Teste de Friedman para o grupo E

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1	5	0	--
30 dias	2	10	105,2	42,64622
60 dias	3	15	182,6	91,94998

Os resultados apresentaram diferença significativa entre os períodos de 10 e 60 dias (p=0,00674).

Tabela 5.18 – Teste de Friedman para o grupo S

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1,2	6	0	--
30 dias	1,8	9	16	22,77378
60 dias	3	15	138,98	130,1531

Tabela 5.19 – Teste de Friedman para o grupo A

Período	Posto médio	Soma de postos	Média	D.P.
10 dias	1,2	6	0	--
30 dias	1,8	9	13,9	14,8415
60 dias	3	15	53,5	42,85365

Os resultados apresentaram diferenças significativas entre os períodos de 10 e 60 dias (p=0,00941), para os grupos S e A.

Os resultados da penetração da cafeína nos períodos de 30 e 60 dias estão expressos nos gráficos 5.5 e 5.6 e a evolução da infiltração em todos os grupos no gráfico 5.7.

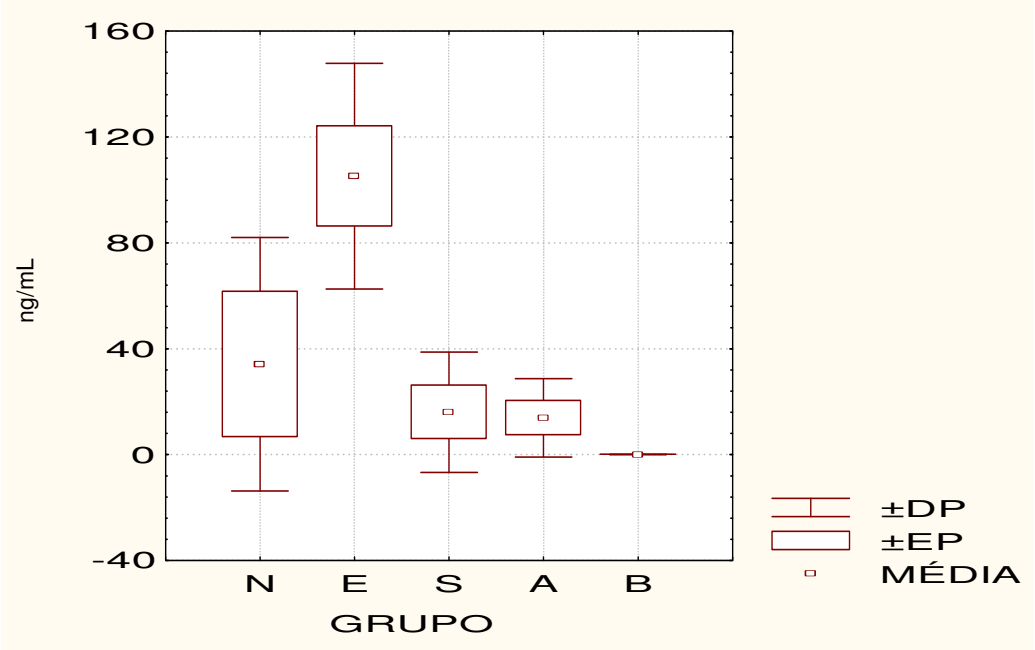

Gráfico 5.5 – Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 30 dias

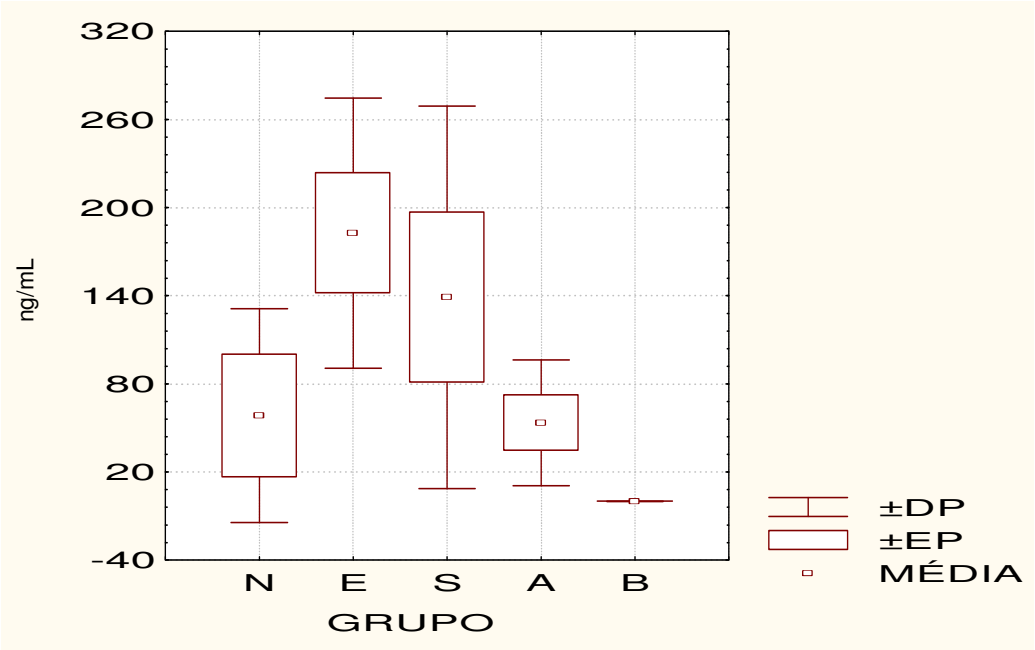

Gráfico 5.6 – Representação gráfica da penetração da cafeína no período de 60 dias

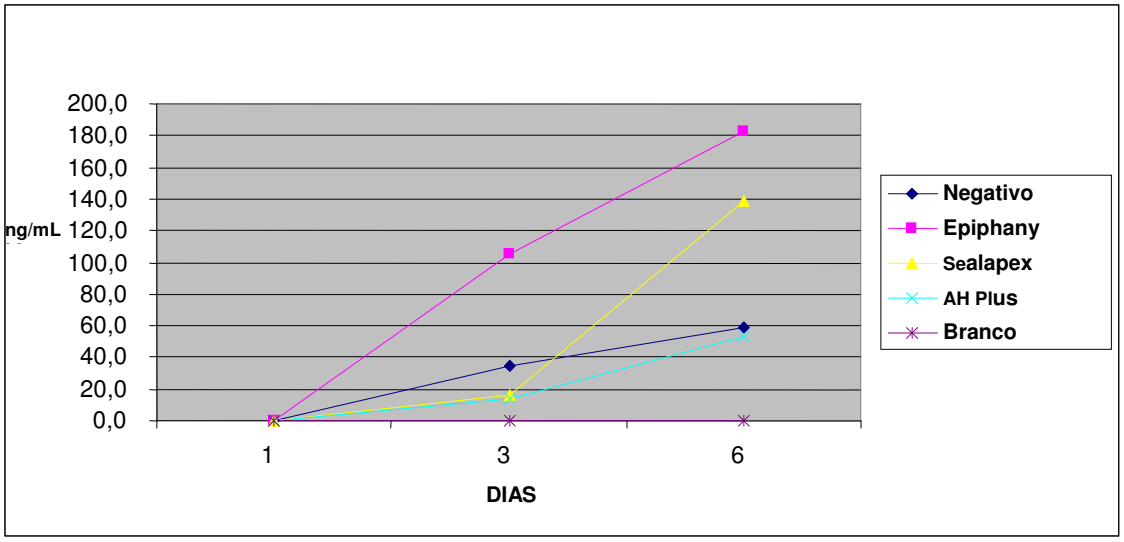

Gráfico 5.7 – Representação gráfica da evolução da penetração da cafeína nos grupos experimentais, controle negativo e branco, nos períodos analisados

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Vários métodos têm sido desenvolvidos para avaliar a capacidade seladora dos materiais obturadores utilizados em endodontia, sendo baseados no mesmo princípio: o de avaliar a penetração de agentes traçadores através de canais radiculares obturados em dentes extraídos. Diferentes tipos de traçadores já foram empregados na avaliação da infiltração.

Os estudos com corantes são os mais utilizados, provavelmente por serem de simples execução e de baixo custo. Dividem-se basicamente em dois métodos: a penetração de corante e a extração de corante. Após a imersão das amostras durante períodos experimentais predeterminados, no primeiro método clivam-se os dentes e avalia-se a profundidade da penetração do corante, que corresponderá ao grau de infiltração. No segundo método dissolve-se a amostra, liberando todo o corante que penetrou no elemento dental, que será medido por um espectrofotômetro. Susini et al. (2006) defendem a utilização do método da extração do corante, que permite uma análise volumétrica de todo o corante que penetrou na amostra, evitando as limitações da secção radicular realizada no método da penetração de corante, que indica apenas a profundidade da penetração do agente traçador. Acrescentam que este método não é conveniente para a avaliação da infiltração porque o eixo da secção radicular é escolhido por acaso e que a probabilidade da secção ocorrer na área de maior profundidade da penetração do corante é baixa. Outra limitação está na capacidade em avaliar a interface apenas do cimento/dentina, não sendo capaz de permitir uma análise da interface cimento/guta-percha ou dos espaços presentes no cimento endodôntico. Oliver e

Abbott (2001) mostraram a impossibilidade de seccionar raízes curvas ou apresentando múltiplos canais radiculares no método da penetração do corante e ainda na possibilidade da perda de corante durante esta manobra.

Wu e Wesselink (1993) fizeram uma análise crítica dos estudos com corantes publicados entre os anos de 1980 e 1990. Observaram uma grande quantidade de variáveis apesar da similaridade dos métodos experimentais utilizados. Preocupados com a credibilidade dos resultados, sugeriram que estas pesquisas deveriam seguir certas normas de padronização. Dentre elas, o pH dos agentes traçadores, que foi avaliado por Starkey, Anderson e Pashley, neste mesmo ano. Observaram uma dissolução dos ápices radiculares, nos grupos onde o corante azul-de-metileno apresentava pH igual ou abaixo de cinco.

Vários tipos de corantes foram utilizados. O consenso entre os autores é a necessidade de se utilizar uma molécula de pequena massa molecular que possa penetrar no interior do canal radicular. Kersten e Moorer (1989) avaliaram a penetração de pequenas partículas e moléculas em obturações endodônticas, dentre elas o azul-de-metileno. Mostraram que a infiltração por estas pequenas partículas não pode ser evitada, independente da técnica de obturação utilizada. Relacionando estes resultados com as observações de estudos clínicos, onde se verifica altos índices de sucesso, concluíram que somente moléculas maiores, como microorganismos ou produtos bacterianos com alta massa molecular, seriam necessárias para originar uma doença periapical. Barthel et al. (1999) comparando a infiltração apical pelos métodos bacteriano e penetração de corante, mostraram que as bactérias não foram capazes de penetrar em áreas alcançadas pelo azul-de-metileno. Acrescentam que fatores como alterações iônicas e de temperatura, pH, motilidade, duplicação e crescimento microbianos podem exercer um papel

importante na infiltração, que não pode ser representada por uma solução aquosa de corante. Susini et al. (2006) relataram que os estudos de penetração de corantes somente avaliam o potencial de pequenas moléculas de corantes de se difundirem no interior dos canais radiculares, mas não podem medir a possibilidade de microorganismos infiltrarem em direção a região periapical.

Um aspecto de divergências na literatura é quanto à presença de ar ou umidade no interior do canal radicular, impedir a penetração do corante. Goldman, Simmonds e Rush (1989) sugeriram a remoção do ar retido no interior do canal radicular, por meio de um sistema de vácuo. Nos grupos em que não houve a ação do vácuo, o corante não penetrou totalmente, enquanto ocorreu uma penetração total do corante quando o vácuo foi utilizado. Concluíram que os estudos de infiltração com corantes, que não consideram relevante a presença do ar retido no interior dos canais, não são considerados confiáveis. Resultados semelhantes encontrados por Spangberg, Acierno e Cha (1989) onde mostraram que o ar retido pode mascarar os resultados obtidos pela penetração passiva do corante e ressaltam a importância do uso do vácuo nestes estudos. Já Ferreira, Bombana e Sayeg (2008) submeteram espécimes ao vácuo e ao sistema ultra-sônico e concluíram que não há necessidade da realização destes procedimentos nos estudos de infiltração pela penetração do corante azul-de-metileno. Kuçukay, Kuçukay e Bayirli (1993) avaliaram a aplicação da centrifugação dos espécimes submetidos ao teste de infiltração pela tinta da Índia e não encontraram diferenças entre os grupos. Kontakiotis, Georgopoulou e Morfis (2001) investigaram a influência da presença de umidade nos espaços presentes em obturações radiculares, na capacidade de penetração do corante azul-de-metileno. Concluíram que o corante

penetra com maior facilidade em espaços secos e em menores proporções quando a umidade está presente.

A avaliação da capacidade seladora dos materiais obturadores em endodontia, pelos estudos de infiltração, deveriam proporcionar ao profissional, uma confiabilidade e segurança na utilização destes materiais na clínica diária. Wu & Wesselink (1993) já alertavam para a falta de correlação entre os resultados destas pesquisas utilizando os corantes, com o sucesso clínico da terapia endodôntica. Observaram que a técnica mais utilizada na obturação dos canais radiculares, a condensação lateral, era a que apresentava os maiores índices de infiltração nestes estudos. Mas clinicamente apresentavam altos índices de sucesso. Oliver e Abbott (2001) relacionaram o sucesso clínico com o método de infiltração pela penetração de corante. Selecionaram dentes de pacientes cujos canais radiculares foram tratados há pelo menos seis meses e tinham a indicação de extração. Radiograficamente 82 espécimes apresentavam-se com sucesso, enquanto que 126 foram classificados como insucesso. Os resultados mostraram que 99,5% das amostras apresentaram a penetração do corante. Os autores relataram um caso classificado como sucesso durante doze anos, indicado para a exodontia por motivos periodontais, que apresentou mais de 86% do comprimento total do canal radicular impregnado pelo corante. Em contraste, outro classificado como insucesso, apresentando periodontite apical assintomática, teve somente 8,5% de impregnação pelo corante. Concluíram que este método para a avaliação da infiltração, não é um indicador confiável de sucesso ou fracasso clínico da terapia endodôntica. Susini et al. (2006) utilizando o método da extração de corante, observaram uma correlação entre a penetração do corante e a qualidade da obturação. Mas encontraram uma baixa correlação entre o método e a presença de imagens radiolúcidas na região

apical. Concluíram que o método não foi capaz de fornecer dados quanto ao sucesso clínico. Se o principal objetivo do endodontista em sua clínica é o sucesso na terapia endodôntica, é preciso muito cuidado na interpretação destes resultados e no julgamento dos diversos materiais analisados. Os métodos utilizando os corantes, pela análise destes estudos, apresentaram-se sem padronização e com resultados pouco confiáveis.

Uma metodologia muito utilizada para a avaliação da infiltração é a da filtração de fluido, preconizada por Derkson, Pashley e Derkson (1986) e relatada em estudos até os dias atuais. Consiste em um sistema que quantifica o volume de fluido que penetra em uma área estudada por unidade de tempo. Essa quantificação ocorre pelo deslocamento de uma bolha de ar, representando o volume de infiltração. Como vantagens, a literatura atribui à possibilidade de avaliação em vários períodos de tempo, de não destruir a amostra e de ser reprodutível (COBANKARA et al., 2002; ORUCOGLU; SENGUN; YILMAZ, 2005; YOSHIMURA; MARSHALL; TINKLE, 1990).

Ao estudarmos a literatura em questão, é possível destacar algumas variáveis que podem trazer dúvidas quanto à confiabilidade nos resultados destas pesquisas.

Após o sistema montado, as medições ocorrem pelo deslocamento da bolha que é posicionada em um ponto inicial de uma escala. Poucos autores fornecem informações a respeito da bolha, como Karagenç et al. (2006) que afirmaram que a bolha possui 5 µm e Raina et al. (2007) relataram que estaria entre 1 e 2 µL. A bolha não pode ser considerada apenas como um ponto. Se a sua imagem for ampliada, é possível verificar que sua forma pode variar de circular a elíptica. O ponto de medição na bolha deveria ser central, afinal os seus extremos estarão mais sujeitos à deformação, pela compressão ocorrida em função do seu deslocamento. E quanto

maior a bolha mais facilmente poderá ocorrer estas alterações dimensionais, fato relatado por Pommel e Camps (2001). A tensão superficial do líquido no capilar se opõe ao deslocamento da bolha. Existem fatores como a presença de íons e bactérias na água que podem alterar a viscosidade do líquido. O seu posicionamento no início da escala, na grande maioria dos estudos, é verificado visualmente. Em função de seu ínfimo tamanho, a impossibilidade de posicioná-la no mesmo ponto, repetidamente no início das medições, é um fator a ser considerado. Assim como na dificuldade de medir da mesma forma o seu deslocamento, que corresponderia à infiltração. Este fator também pode ser influenciado por um cansaço visual do operador. Algumas pesquisas adotaram um sistema computadorizado para esta medição (COBANKARA et al., 2006; MONTICELLI et al., 2007; ORUCOGLU; SENGUN; YILMAZ, 2005).

A maior parte do sistema é composta por um tubo plástico (COBANKARA et al., 2006; ORUCOGLU; SENGUN; YILMAZ, 2005; POMMEL; CAMPS, 2001; WU et al. 1993; WU et al., 2001; WU et al., 2003;) ou de polietileno (ANDERSON; POWELL; PASHLEY, 1988; KARDON et al., 2003; PELLICCIONI et al., 2007; RAINA et al., 2007; SILVA NETO et al. 2007; SULLIVAN et al., 1999; YOSHIMURA; MARSHALL; TINKLE, 1990;), contendo o fluido e a bolha. Uma pressão constante é aplicada, através de um cilindro de ar, com o objetivo de se obter uma maior rapidez de leitura (POMMEL; CAMPS, 2001; WU et al., 1993). Diversos valores de pressão foram encontrados na literatura variando de 1 psi (PELLICCIONI et al., 2007), 1,5 psi (WU; GEE; WESSELINK, 1994), 3 psi (COBANKARA et al., 2002), 15 psi (KARDON et al., 2003) a 20 psi (WU et al., 1993), não ocorrendo uma padronização. Sabe-se que ocorre uma dilatação do tubo depois de aplicada. Pommel e Camps (2001) relataram que a pressão aplicada, o diâmetro do tubo, o comprimento da bolha e o

tempo das medições podem influenciar nos resultados. Mostraram que quanto menor o diâmetro do tubo, mais sensível é o sistema e que quanto maior, poderá sofrer mais expansão. Verificaram que poucas pesquisas fornecem este diâmetro e que estas alterações serão maiores quanto maior for a pressão. Sugerem um período de espera de uma hora para o início das medições, para que o fluido sob pressão no sistema possa alcançar uma estabilidade, assim como a compressão da bolha e a expansão do tubo. Concluíram que em função das grandes diferenças e imprecisão nos protocolos dos estudos publicados, os resultados não podem ser comparados. Sullivan et al. (1999) optaram por um período de estabilização do sistema de quatro minutos, para que o tubo de polietileno retornasse à sua forma original, após a aplicação da pressão. Relataram que o próprio sistema poderia atuar como um fator de variação, em função da expansão e contração do tubo e variações na temperatura. Rutledge e Montgomery (1990) optaram por um período de um minuto para o relaxamento do tubo, previamente às medições. Wu et al. (2003) deixaram o sistema montado sob pressão, durante uma noite, para permitir o relaxamento do tubo plástico.

A falta de padronização nos períodos experimentais também é observada na literatura, variando de 10 minutos (DERKSON; PASHLEY; DERKSON, 1986) a 6 meses (FORTE et al., 1998; MARLEY; FERGUSON; HARTWELL, 2001; WU; FAN; WESSELINK, 2000) após as obturações. Pommel e Camps (2001) relataram que o tempo de mensuração não é escolhido por ser clinicamente relevante, mas por conveniência dos pesquisadores. Afirmaram que isto não é um problema, pois a proposta destes estudos é comparar diferentes técnicas ou materiais e não correlacionar os resultados com a situação clínica. As taxas de infiltração obtidas se mostraram dez vezes menores em um maior período (24 horas), quando

comparadas a um curto período experimental (3 minutos). Concluíram que este período deve ser o maior possível para aumentar a confiabilidade das medições. Wu, De Gee e Wesselink (1994) calcularam um tempo de medição teórico de 50 segundos, mas utilizaram três horas em função da incerteza da correlação entre seus cálculos e a situação clínica.

A taxa de infiltração avaliada neste método se dá pelo deslocamento da bolha, em função do fluido do sistema preencher possíveis espaços vazios no canal radicular obturado. Mas para que o fluido penetre nestes espaços, o ar presente deve sair. Assim uma pergunta pode ser feita: por onde sai o ar? Goldman, Simmonds e Rush (1989) afirmaram que a pressão positiva exclui problemas causados por esta retenção de ar. Wu e Wesselink (1993) alertaram que o ar retido no interior do canal, pode fazer com que muitos resultados sejam de difícil interpretação. E se pode ser eliminado ou não pela aplicação de pressão é questionável. Wu et al. (2001) relataram que as raízes podem conter cavidades fechadas em suas extremidades e que não são detectadas pelo sistema de filtração de fluido, mas puderam ser observadas em secções transversais da raiz. Mas mesmo com a pressão positiva, o líquido não vai ocupar os espaços, a não ser que o dente apresente porosidades ou outras variâncias para o ar sair.

Em todos os estudos, o cianoacrilato de etila (Super Bonder) é utilizado para fazer a vedação onde se acopla os espécimes e de todas as conexões do sistema, ocorrendo apenas pequenas variações no modo de encaixe dos dentes. Problemas de vazamentos nestas vedações foram descritas em várias pesquisas. Derkson, Pashley e Derkson (1986) observaram que alguns espécimes apresentaram infiltração na adaptação no sistema, durante as medições. E os mesmos eram readaptados adicionando-se mais cola, até quando cessasse este vazamento.

Anderson, Powell e Pashley (1988) observaram alguns casos de vazamentos, durante o experimento, no tubo plástico ou na seringa. Então corrigiam e mediam novamente a infiltração. Estes problemas durante o experimento sugerem que estes pesquisadores não validaram o método, previamente à sua aplicação. Wu et al. (1993) relataram que estas conexões sob pressão podem permitir vazamentos, originando resultados duvidosos. Johnson, Anderson e Pashley (1995) utilizaram corante no líquido do sistema para verificar pontos de infiltração nas amostras ou no aparato. Usaram cianoacrilato para selar estes pontos. Forte et al. (1998) relataram que uma desvantagem deste método com o tempo é a tendência de ocorrer infiltração pelo cianoacrilato, onde adaptavam-se as amostras. Quando isto ocorria, removiam a cola antiga e reaplicavam. Os dentes que eram fraturados durante a remoção da cola, eram descartados. Acredita-se que as demais vedações também possam ficar prejudicadas podendo acarretar em vazamentos. A partir destes fatos sugere-se que a bolha pode deslocar-se em função da expansão do tubo ou de possíveis vazamentos no sistema, proporcionando falsos resultados. Pelliccioni et al. (2007) relataram que a presença de fendas, porosidades e fraturas no cimento obturador também podem ser calculados pelo sistema. Fogel (1995) sugeriu que algumas medições tem sido em função da movimentação do fluido nas ramificações dos canais ou nos túbulos dentinários, ou ainda pela evaporação da água da superfície dentária, e não em função da infiltração. Condições também reportadas por Pommel e Camps (2001).

Alguns resultados das pesquisas encontradas na literatura são passíveis de questionamentos. Pelliccioni et al. (2007), verificaram a capacidade seladora do MTA como um material obturador do canal radicular. Separaram em dois grupos. No primeiro manipularam o material como preconiza o fabricante e no segundo grupo

inseriram o material sem o acréscimo de água, somente o pó. Os resultados mostraram que não houve diferenças estatísticas significantes entre os grupos. Para a surpresa dos autores as taxas de infiltração diminuíram de 1 dia até 2 semanas, aumentaram deste período até 4 semanas e decresceram novamente até o final do período experimental. Não souberam explicar o ocorrido, apenas relataram que as condições experimentais e o operador foram os mesmos. Wu, Fan e Wesselink (2000) compararam a infiltração em canais obturados com guta-percha associada a um cimento obturador e somente com a guta-percha, sem cimento. Utilizaram duas técnicas obturadoras. No período de 48 horas, os canais obturados somente com a guta-percha apresentaram maiores índices de infiltração. Após 6 meses todos os grupos apresentaram taxas semelhantes de infiltração, não ocorrendo diferenças pela presença do cimento obturador. No experimento de Forte et al. (1998), os espécimes do grupo controle negativo apresentaram baixos níveis de infiltração que aumentaram com o passar do tempo.

Os estudos com a metodologia da filtração de fluido apresentaram muitas variáveis sem padronização, ausência de validação dos métodos e resultados questionáveis.

A metodologia com a utilização de microorganismos tem sido empregada para a avaliação da infiltração. Estes são colocados na porção coronária do dente, ficando a porção apical imersa em um meio de crescimento específico e quando esse apresentar turvação significa que o microorganismo penetrou em toda a extensão obturada.

O *Enterococcus faecalis* é uma espécie bacteriana muito utilizada nestes estudos (BAUMGARTNER; ZEHNDER; PAQUÉ, 2007; FRANSEN et al., 2008; SHIPPER et al., 2004; YUCEL et al., 2006) por ser encontrada na flora bucal e

freqüentemente identificada em infecções mistas e em casos de insucessos endodônticos (MUNOZ et al., 2007). Outros microorganismos também têm sido reportados na literatura: *Staphylococcus epidermidis* (TORABINEJAD; UNG; KETTERING, 1990), *Proteus vulgaris* (TORABINEJAD; UNG; KETTERING, 1990), *Pseudomonas aeruginosa* (WU et al., 1993) e *Streptococcus mutans* (SHIPPER et al., 2004). De-Deus et al. (2006) utilizaram a saliva.

Torabinejad, Ung e Kettering (1990) mostraram que a partir de 19 dias, as bactérias podem colonizar toda a extensão de canais radiculares obturados. Trope, Chow e Nissan (1995) verificaram que as endotoxinas provenientes de bactérias *Actinobacillus actinomycetemcomitans* poderiam contaminar totalmente canais radiculares obturados, em até 21 dias.

A utilização de microorganismos nestes estudos de infiltração poderia sugerir um método que representasse de um modo mais real, o que ocorre no organismo, já que a etiologia de patologias apicais depende da presença destes patógenos no canal radicular. Mas limitações e dúvidas relacionadas a esta metodologia tem sido encontradas na literatura. De-Deus et al. (2008b) afirmam que estes estudos estão limitados a modelos experimentais estáticos, que não simulam as condições encontradas na cavidade oral como as alterações de temperatura, influências da dieta e fluxo salivar. O tipo de microorganismos também pode influenciar nos resultados destas pesquisas (XU et al., 2005; YUCEL et al., 2006).

Fransen et al. (2008) afirmam que este não é um método que permite quantificar o número de bactérias que passam através do canal radicular e que esta quantia de infiltração que poderia levar a um fracasso clínico é desconhecida. Veríssimo e Vale (2006) verificaram que estes estudos são mais qualitativos que quantitativos e que se somente uma bactéria passar através do canal radicular

obturado, poderia se multiplicar no meio de crescimento específico e originar turbidez.

Alguns estudos realizaram a vedação das interfaces do modelo experimental com o cianoacrilato (DE-DEUS et al., 2006; GILBERT; WITHERSPOON; BERRY, 2001; MUNOZ et al., 2007; YUCEL et al., 2007) ou com uma resina epóxica (TORABINEJAD; UNG; KETTERING, 1990). Mas a limitação destes materiais foi mostrada por Trope, Chow e Nissan (1995) que relataram que somente a utilização de cera pegajosa, evitou a difusão de endotoxinas da câmara superior contaminada, para a câmara inferior nos espécimes do grupo controle negativo. Este material também foi utilizado em outras pesquisas (BAUMGARTNER; ZENDER; PAQUÉ, 2007; SHIPPER et al., 2004).

Barthel et al. (1999) questionaram se os resultados destes testes *in vitro,* poderiam ser correlacionados para as condições *in vivo*, porque o número de bactérias ou endotoxinas bacterianas necessárias para iniciar um processo inflamatório é desconhecido. Destacaram a importância que os fatores imunológicos exercem em um organismo, não podendo ser representados nos *e*studos laboratoriais.

Muitos pesquisadores, frente à falta de padronização e as dúvidas quanto aos resultados das pesquisas com infiltração, realizaram estudos comparando dois ou mais métodos. A maioria não encontrou correlação entre os resultados das metodologias analisadas (AMDITIS et al., 1992; BARTHEL et al., 1999; CAMPS; PASHLEY, 2003; GILBERT; WITHERSPOON; BERRY, 2001; KARAGENÇ et al., 2006; MARTELL; CHANDLER, 2002; POMMEL; JACQUOT; CAMPS, 2001; WIMONCHIT; TIMPAWAT; VONGSAVAN, 2002; WU; GEE; WESSELINK, 1994). Gilbert, Witherspoon e Berry (2001) comparando os resultados de sua pesquisa com

a literatura, reportaram que todos os estudos com infiltração devem ser vistos com desconfiança. E mesmo que os pesquisadores conduzam o experimento com todo o cuidado, variações nos resultados podem ocorrer. Veríssimo e Vale (2006) realizaram uma revisão de literatura sobre os métodos de infiltração e observaram uma falta de padronização e que mesmo quando a mesma metodologia é utilizada, observaram pequenas variações, que poderiam interferir nos resultados.

De-Deus et al. (2008b) compararam os resultados dos métodos da extração de corante e bacteriano e observaram uma correlação nos resultados. Apresentaram duas opções como justificativa frente aos resultados encontrados: ambos os métodos apresentam baixa sensibilidade em detectar diferenças entre as técnicas de obturação e que as diferenças entre os espécimes possam ter sido muito pequenas em termos de capacidade seladora dos materiais obturadores. Observa-se que os autores desconfiam dos próprios resultados, por apresentar tais justificativas.

Frente a todas estas divergências quanto às metodologias que avaliam a infiltração, o presente estudo teve por objetivo propor modificações no recente modelo experimental de avaliação proposto por Xu et al. (2005), com modificações no agente traçador e na técnica de quantificação da infiltração.

Wu e Wesselink (1993) salientaram a importância da padronização do comprimento e da anatomia das raízes utilizadas em pesquisas de infiltração. Desta maneira utilizaram-se dentes com canais únicos e retos, que tiveram suas coroas eliminadas e as raízes mantidas com 12 mm de comprimento. Um consenso entre os pesquisadores ocorre em relação à utilização de dentes com canais únicos e retos, mas uma pequena variação no comprimento pode ser observada, variando de 11 mm (XU et al., 2007), 12 mm (DE DEUS et al., 2008a; KAYA et al., 2007; SLUIS et

al., 2007), 14 mm (OZOK et al., 2008) até 15 mm (SHEMESH; WU; WESSELINK, 2006; SOUZA et al., 2008; XU et al., 2005).

Durante a instrumentação dos canais radiculares a manutenção da patência foi realizada com a utilização de um instrumento número 15 (OZOK et al., 2008; XU et al., 2005; XU et al., 2007) e a irrigação entre o uso de cada instrumento com 2 mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (KAYA et al., 2007; XU et al., 2005; XU et al., 2007). A utilização de EDTA 17% na irrigação também tem sido empregada em diversas pesquisas (KAYA et al., 2007; OZOK et al., 2008; XU et al., 2005; XU et al., 2007).

As raízes dos espécimes dos grupos experimentais foram impermeabilizadas com esmalte de unhas, com exceção dos 2 mm apicais (DE DEUS et al., 2008a; KAYA et al., 2007; OZOK et al., 2008; SHEMESH; WU; WESSELINK, 2006; SLUIS et al., 2007).

Após a realização das obturações dos canais radiculares, com o auxílio de um calcador aquecido, procedeu-se a remoção de 7 mm do material obturador, permanecendo apenas 4 mm no interior dos canais, simulando o preparo para um retentor intracanal. Esta manobra tem por objetivo acelerar o processo de infiltração, em função de uma menor quantidade de material que permanece nos canais (SHEMESH; WU; WESSELINK, 2006, XU et al., 2005).

Os espécimes do grupo controle negativo permaneceram com o material obturador em todo o canal radicular e tiveram as raízes impermeabilizadas com esmalte de unhas (KAYA et al., 2007; OZOK et al., 2008; SHEMESH; WU; WESSELINK, 2006; SLUIS et al., 2007; XU et al., 2005). No segundo experimento foram adicionados mais três espécimes com as coroas integras (grupo Branco)

semelhante ao realizado por De Deus et al. (2008a) nos espécimes do grupo controle negativo.

A escolha do agente traçador tem sido importante na análise da quantificação da infiltração, isto porque as propriedades físico-químicas podem influenciar nos resultados. Neste sentido, a cafeína foi escolhida por ser uma substância ionizável, solúvel em água, pH 6.0 e de baixo peso molecular (MW = 194 Da). Embora tenha sido satisfatória como agente traçador, mais estudos deverão ser realizados, uma vez que há relatos na literatura da reatividade de agentes traçadores com materiais de uso endodôntico (SHEMESH et al., 2008).

Para a quantificação da infiltração do traçador foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas, por ser uma técnica de alta sensibilidade e especificidade, quando comparada às outras técnicas já descritas (DE-DEUS et al., 2008; KAYA et al., 2007; OZOK et al., 2008; SHEMESH et al., 2006; SLUIS et al., 2007; SOUZA et al., 2008; XU et al., 2005; XU et al., 2007; ZOU et al., 2007).

Foram realizados dois experimentos, variando-se apenas a adaptação do espécime no sistema. No primeiro experimento (utilizando cianoacrilato como vedante) foi realizado um grupo piloto com três espécimes (controle negativo) para a certificação das condições de vedação da interface entre o dente e o tubo plástico. Após 5 dias foi retirada uma alíquota da solução receptora, para a avaliação da infiltração de cafeína na solução, a qual foi negativa. Após este resultado, os espécimes dos grupos experimentais foram montados em aparatos individuais, sendo observada a infiltração no controle negativo após 10 dias, aumentando gradativamente no decorrer do experimento.

No GE foi observada infiltração em quatro dos cinco espécimes após 10 dias, enquanto que três dos cinco espécimes atingiram o limite máximo de quantificação após o término do experimento, e os outros dois apresentaram concentração de 1150 e 330 ng/mL. No GS e GA, os resultados foram semelhantes nos 10 primeiros dias, no qual apresentaram infiltração em apenas um espécime de cada grupo.

A importância do controle negativo durante um experimento está na validação do sistema e em proporcionar confiabilidade nos resultados. Após a constatação da infiltração, ocorrida nos espécimes do grupo controle negativo e nos grupos experimentais observados em nossos estudos e em decorrência das limitações do cianoacrilato como uma agente de vedação, foi realizado um segundo experimento, modificando o vedante, cianoacrilato, por uma camada espessa de resina epóxi. A resina foi aplicada na interface do espécime e do tubo de silicone e a vedação foi avaliada utilizando um cilindro de ar comprimido. A presença de bolhas pela junção significaria falha na adaptação (KAYA et al., 2007).

Em todos os grupos analisados incluindo o controle negativo não houve detecção de infiltração até o décimo dia do experimento. Do GN, dois espécimes apresentaram infiltração até o término do período experimental. O GS e o GA apresentaram um perfil semelhante de infiltração, enquanto que, o grupo E apresentou uma infiltração maior quando comparado com os outros grupos. Os índices de infiltração obtidos com o experimento 2 foram menores quantidades quando comparados com o experimento 1. Isto nos mostrou a limitação dos agentes de vedação (cianoacrilato e resina epóxi) em evitar a passagem de pequenas quantidades do agente traçador. De Deus et al. (2008) utilizaram dentes hígidos com as coroas no grupo controle negativo, mesmo utilizando apenas os 12 mm radiculares dos espécimes nos grupos experimentais. Dessa forma, em paralelo ao

estudo, foi realizada uma análise com um grupo denominado branco (GB) composto por três espécimes hígidos, para a verificação da eficácia na vedação. Não foi detectada infiltração da solução através dos espécimes, mostrando que a resina epóxi e a utilização dos dentes com as coroas apresentaram-se impermeáveis à infiltração.

A utilização da hifenação da técnica de CLAE-EM/EM nos possibilitou quantificar concentrações do agente traçador muito abaixo dos valores já publicados (DE-DEUS et al., 2008; KAYA et al., 2007; OZOK et al., 2008; SHEMESH et al., 2006; SLUIS et al., 2007; SOUZA et al., 2008; XU et al., 2005; XU et al., 2007; ZOU et al., 2007). Foi realizado um estudo comparativo do limite mínimo de detecção da cafeína pelo CLAE-EM/EM, com um Espectrofotômetro UV-ViS, onde este limite de detecção foi de 2000 ng/mL de cafeína, valor esse acima do limite máximo de leitura da curva de calibração obtido através do CLAE-EM/EM (10 – 1800 ng/mL). Esses dados nos mostram que os resultados de quantificação obtidos com a técnica de UV-Vis pode não corresponder aos dados reportados, onde se afirma não haver infiltração. Assim a técnica demonstrou-se adequada para a detecção de quantidades mínimas de substância infiltrada.

Com base nos resultados obtidos nos experimentos 1 e 2 (cianoacrilato e resina epóxi) e em relatos da literatura, onde foi constatado que o cianoacrilato é resistente por um curto período de tempo, podemos inferir que a vedação com cianoacrilato não é ideal para ser usado como vedante em pesquisas onde se avalia a infiltração em Endodontia. A resina epóxi apresentou uma resistência maior quando comparada ao cianoacrilato. Contudo, sem garantir que o sistema de vedação estaria sendo efetivo, não foi possível avaliar a capacidade seladora dos materiais obturadores testados.

Verifica-se a necessidade em se validar criteriosamente as principais variáveis dos sistemas que avaliam a infiltração, para se ter uma padronização do estudo e maior credibilidade nos resultados.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que:

1. Em função das limitações dos agentes de vedação (cianoacrilato e resina epóxica) empregados no modelo experimental, torna-se inseguro emitir conclusões a respeito da maior ou menor capacidade seladora dos materiais obturadores testados.

2. A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas se mostrou uma técnica de alta sensibilidade e especificidade, na quantificação da infiltração.

3. A cafeína foi satisfatória como um agente traçador.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS[1]

Amditis C, Blackler SM, Bryant RW, Hewitt GH. The adaptation achieved by four root canal filiing techniques as assessed by three methods. Aust Dent J 1992;37(6):439-44.

Anderson RW, Powell B, Pashley DH. Microleakage of three temporary endodontic restorations. J Endod 1988;14(10):497-501.

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

Barnett F. Resilon: um novo material para substituir a guta-percha. In: Lopes HP, Siqueira Jr. JF. Endodontia: biologia e técnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 685-91.

Barthel CR, Moshonov J, Shuping G, Orstavik D. Bacterial leakage versus dye leakage in obturated root canals. Int Endod J 1999;32:370-5.

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

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

Cobankara FK, Adanir N, Belli S, Pashley DH. A quantitative evaluation of apical leakage of four root-canal sealers. Int Endod J 2002;35:979-84.

Cobankara FK, Orucoglu H, Sengun A, Belli S. The quantitative evaluation of apical sealing of four endodontic sealers. J Endod 2006;32(1):66-8.

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

De-Deus G, Coutinho Filho T, Reis C, Murad C, Paciornik S. Polymicrobial leakage of four root canal sealers at two different thicknesses. J Endod 2006;32(10):998-1001.

De-Deus G, Soares J, Leal F, Luna AS, Fidel S, Fidel RAS. Similar glucose leakage pattern on smear-covered, EDTA-treated and Biopure MTAD-treated dentin. J Endod 2008a;34(4):459-62.

De-Deus G, Leal F, Soares J, Luna AS, Murad C, Fidel S, Fidel RAS. Dye extraction results on bacterial leakproof root fillings. J Endod 2008b; 34(9):1093-4.

Derkson GD, Pashley DH, Derkson ME. Microleakage measurement of selected restorative materials: A new in vitro method. J Prost Dent 1986;56(4):435-40.

Ferreira R, Bombana AC, Sayeg IJ. *In vitro* analysis of the penetration of methylene blue dye in human radicular dentin using different methods of impregnation. Aust Endod J 2008;34:1-5.

Fogel HM. Microleakage of posts used to restore endodontically treated teeth. J Endod 1995;21(7):376-9.

Forte SG, Hauser MJ, Hahn C, Hartwell GR. Microleakage of super-EBA with and without finishing as determined by the fluid filtration method. J Endod 1998;24(12):799-801.

Fransen JN, He J, Glickman GN, Rios A, Shulman JD, Honeyman A. Comparative assessment of ActiV GP/Glass ionomer sealer, Resilon/Epiphany, and Gutta-percha/AH Plus obturation: a bacterial leakage study. J Endod 2008;34(6):725-7.

Gilbert SD, Witherspoon DE, Berry CW. Coronal leakage following three obturation techniques. Int Endod J 2001;34:293-9.

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

Johnson JR, Anderson RW, Pashley DH. Evaluation of the seal of various amalgam products used as root-end fillings. J Endod 1995;21(10):505-8.

Karagenç B, Gencoglu N, Ersoy M, Cansever G, Kulekçi G. A comparison of four different microleakage tests for assessment of leakage of root canal fillings. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;1(7):1-4.

Kardon BP, Kuttler S, Hardigan P, Dorn SO. An in vitro evaluation of the sealing ability of a new root canal obturation system. J Endod 2003;29(10):658-61.

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:e66-e73.

Kersten HW, Moorer WR. Particles and molecules in endodontic leakage. Int Endod J 1989;22:118-24.

Kontakiotis EG, Georgopoulou MK, Morfis AS. Dye penetration in dry and water-filled gaps along root fillings. Int Endod J 2001;34:133-6.

Kuçukay IS, Kuçukay S, Bayirli G. Factors affecting apical leakage assessment. J Endod 1993;19(7):362-5.

Marley JT, Ferguson DB, Hartwell MS. Effects of chlorhexidine gluconate as an endodontic irrigant on the apical seal: short-term results. J Endod 2001;27(12):775-8.

Martell B, Chandler NP. Electrical and dye leakage comparison of three root-end restorative materials. Quintessence Int 2002;33(1):30-4.

Michelotto ALCM, Araki AT, Moura-Netto C, Akisue E, Lage-Marques JL. Análise *in vitro* de obturações realizadas com técnicas termoplásticas associadas ao novo sistema de obturação RealSeal. Rev da Pós-graduação FOUSP 2005;12(3): 362.

Monticelli F, Sword J, Martim RL, Schuster GS, Weller RN, Ferrari M, et al. Sealing properties of two contemporary single-cone obturation systems. Int Endod J 2007;40:374-85.

Munoz HR, Saraiva-Lemus GA, Florián WE, Lainfiesta JF. Microbial leakage of *Enterococcus faecalis* after post space preparation in teeth filled in vivo with Real Seal versus gutta-percha. J Endod 2007;33(6):673-5.

Oliver CM, Abbott PV. Correlation between clinical success and apical dye penetration. Int Endod J 2001;34:637-44.

Orucoglu H, Sengun H, Yilmaz N. Apical leakage of resin based root canal sealers with a new computadorized fluid filtration meter. J Endod 2005;31(12):886-90.

Ozok AR, Sluis LWM, Wu MK, Wesselink PR. Sealing ability of a new polydimethylsiloxane-based root canal filling material. J Endod 2008;34(2):204-7.

Pelliccioni AG, Vellani CP, Gatto MRA, Gandolfi MG, Marchetti C, Prati C. Proroot mineral trioxide aggregate cement used as a retrograde filling without addition of water: an in vitro evaluation of its microleakage. J Endod 2007;33(9):1082-5.

Pommel L, Camps J. Effects of pressure and measurement time on the fluid filtration method in endodontics. J Endod 2001;27(4):256-8.

Pommel L, Jacquot B, Camps J. Lack of correlation among three methods for evaluation of apical leakage. J Endod 2001;27(5):347-50.

Raina R, Loushine RJ, Weller N, Tay FR, Pashley DH. Evaluation of the quality of the apical seal in resilon/epiphany and gutta-percha/AH Plus filled root canals by using a fluid filtration approach. J Endod 2007;33(8):944-7.

Rutledge RE, Montgomery S. Effects of intracanal medicaments on the sealing ability of TERM. J Endod 1990;16(6):260-4.

Shemesh H, Wu MK, Wesselink PR. Leakage along apical root fillings with and without smear layer using two different leakage models: a two-month longitudinal *ex vivo* study. Int Endod J 2006;39:968-76.

Shemesh H, Souza EM, Wu MK, Wesselink PR. Glucose reactivity with filling materials as a limitation for using the glucose leakage model. Int Endod J 2008;41:869-72.

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 (Resilon). J Endod 2004;30(5):342-7.

Silva Neto UX, Moraes IG, Westphalen VPD, 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(2):53-7.

Sluis LWM, Shemesh H, Wu MK, Wesselink PR. An evaluation of the influence of passive ultrasonic irrigation on the seal of root canal fillings. Int Endod J 2007;40:356-61.

Souza EM, Wu MK, Shemesh H, Bonetti-Filho I, Wesselink PR. Comparability of results from two leakage models. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106(2):309-13.

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

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

Sullivan JE, Di Fiore PM, Heuer MA, Lautenschlager EP, Koerber A. Super-EBA as an endodontic apical plug. J Endod 1999;25(8):559-61.

Susini G, Pommel L, About I, Camps J. Lack of correlation between ex vivo apical dye penetration and presence of apical radiolucencies. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;102(3):e19-23.

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

Trope M, Chow E, Nissan R. *In vitro* endotoxin penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. Endod Dent Traumatol 1995;11:90-4.

Veríssimo DM, Vale MS. Methodologies for assessment of apical and coronal leakage of endodontic filling materials: a critical review. J Oral Sci 2006;48(3):93-8.

Xu Q, Fan MW, Fan B, Cheung GSP, Hu HL. A new quantitative method using glucose for analysis of endodontic leakage. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005;99(1):107-11.

Xu Q, Ling J, Cheung GSP, Hu Y. A quantitative evaluation of sealing ability of 4 obturation techniques by using a glucose leakage test. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007;104(4):109-13.

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

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

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

Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR. Fluid Transport and dye penetration along root canal filling. Int Endod J 1994;27:233-8.

Wu MK, Fan B, Wesselink PR. Diminished leakage along root canals filled with gutta-percha without sealer over time:a laboratory study. Int Endod J 2000;33:121-5.

Wu MK, Schwartz FBC, Van Der Sluis LWM, Wesselink PR. The quality of root fillings remaining in mandibular incisors after root-end cavity preparation. Int Endod J 2001;34:613-9.

Wu MK, Van Der Sluis LWM, Ardila CN, Wesselink PR. Fluid movement along the coronal two-thirds of root fillings placed by three different gutta-percha techniques. Int Endod J 2003;36:533-40.

Yoshimura M, Marshall J, Tinkle JS. In vitro quantification of the apical sealing ability of retrograde amalgam fillings. J Endod 1990;16(1):9-12.

Yucel AC, Guler E, Guler AU, Ertas E. Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. J Endod 2006;32(9):890-3.

Zou L, Liu J, Yin SH, Tan J, Wang FM, Li W, Xue J. Effect of placement of calcium sulphate when used for the repair of furcation perforations on the seal produced by a resin-based material. Int Endod J 2007;40:100-5.

ANEXOS

Anexo A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UTP

Universidade Tuiuti do Paraná

Credenciada por Decreto Presidencial de 7 de julho de 1997 - D.O.U. nº 128, de 8 de julho de 1997, Seção 1, página 14295

Curitiba, 02 de Dezembro de 2008

Of. CEP-UTP nº 000117/2008

Sr. Pesquisador

O Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos e Animais da Universidade Tuiuti do Paraná, CEP-UTP, após apreciação do Projeto de pesquisa de sua autoria, intitulado: **"Utilização da espectrometria de massas como um método de análise da microinfiltração em obturações endodônticas.",** considerou- o **APROVADO.**

Prof. Dr. Eduardo Carrilho
Coordenador do CEP-UTP

Ilmo Sr.
Prof. Dr. André Luiz da Costa Michelotto
Pesquisador Responsável

Campus Professor Sydnei Lima Santos e Reitoria: Rua Sydnei Antônio Rangel Santos, 238 - Santo Inácio - CEP 82.010-330 - Fone/Fax (41) 3331- 7700
Campus Bacacheri: Rua Cícero Jaime Bley, s/n Hangar 38 - Bacacheri - CEP: 82.515-180 - Fone/Fax (41) 3331- 7700
Campus Champagnat: Rua Marcelino Champagnat, 505 - Mercês - CEP 80.710-250 - Fone Fone/Fax (41) 3331- 7700
Campus Jardim Schaffer: Rua José Domingos Marcondes de Carvalho, 253 - Jardim Schaffer- CEP 82.100-290 Fone/Fax (41) 3331- 7700
Campus Mossunguê: Rua José Nicco, 179 - Mossunguê - CEP 81.200-300 - Fone/Fax (41) 3331- 7700
Curitiba - Paraná - Brasil