

**CARMO ANTONIO AUN**

**INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO COM LASERS DE ALTA POTÊNCIA  
NA MICROINFILTRAÇÃO BACTERIANA E FÚNGICA EM DENTES  
HUMANOS RETROBTURADOS COM MTA**

São Paulo

2008



ISBN 978-84-692-3915-3

Reservados todos los derechos  
© Carmo Antonio Aun  
Universidad de La Rioja

Logroño, 2009

Universidad de La Rioja  
Biblioteca Universitaria  
C/ Piscinas s/n  
26006 LOGROÑO  
LA RIOJA – ESPAÑA

E-mail: [dialnet@unirioja.es](mailto:dialnet@unirioja.es)  
Página web: [dialnet.unirioja.es](http://dialnet.unirioja.es)

Carmo Antonio Aun

**Influência da irradiação com lasers de alta potência na  
microinfiltração bacteriana e fúngica em dentes humanos  
retrobturados com MTA**

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

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Giulio Gavini

São Paulo

2008

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Aun CA. Influência da irradiação com lasers de alta potência na microinfiltração bacteriana e fúngica em dentes humanos retrobturados com MTA [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, \_\_\_/\_\_\_/2008

### 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

A **Deus**, pelo dom da vida, por tudo que fui, sou e ainda serei.

Aos meus amados pais, **Carlos Eduardo Aun e Marisa Ficarelli Aun**, pelo incondicional amor, apoio, esforço, carinho e exemplo, durante toda minha vida, transformando uma criança em um homem. É vosso amor ao ensino e a ciência, o grande fruto de uma vida.

Ao meu grande e prezado irmão **Eduardo A. Aun**, pela sincera e amada convivência todos estes anos e por ser um grande exemplo de garra, dedicação e vitória.

Aos meus **avós** queridos, que me ensinaram valores inestimáveis e me amaram como um filho. Vocês foram e ainda são pilares em minha vida, e estão vivos em meu coração.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador **Prof. Dr. Giulio Gavini**, um exemplo de professor comprometido, qualificado e honesto. Serei eternamente grato por sua dedicação e paciência desde a graduação e, principalmente, na especialização e doutoramento, sendo peça fundamental na minha formação profissional e pessoal. Sinto-me honradíssimo em ser seu assistente e fazer parte de sua equipe. Muito obrigado por tudo, em especial sua amizade e companheirismo.

Ao prezado **Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana** por toda confiança, apoio e suporte. Agradeço sinceramente toda paciência e carinho em resolver os mais variados problemas, sempre ajudando nas horas mais difíceis. Seu comprometimento com o ensino é venerável.

Aos **Profs. Drs. Celso Luiz Caldeira, Danilo Minor Shimabuko e Érico de Mello Lemos**, amigos e mestres que me ensinaram muito e me acolheram em sua confiança e amizade. Muito obrigado por todos os momentos de aprendizagem, companheirismo, incentivo, dedicação e paciência. Nossos laços são para sempre.

Aos **Profs. Drs. Marcelo dos Santos, Manoel E. de Lima Machado, Abílio M. de Moura e Evandro Luiz Siqueira**, pelos ensinamentos, paciência, companheirismo e amizade. Vossa contribuição é de grande valor na minha formação. Muito obrigado pela convivência respeitosa e proveitosa.

Aos alunos de doutorado **Prof(a)s. Ms. Alexandre Gomes Bezerra, Eduardo Akisue e Adriana F. Paisano** e à **Profa. Ms. Lieni de Almenida Okino** pelo singular e sincero companheirismo e ajuda em momentos cruciais do desenvolvimento dos estudos e da tese. Vossa amizade e carinho são de grande valor para minha pessoa. Muito obrigado por tudo que fizeram.

A todos os assistentes e auxiliares didáticos do curso de Endodontia Noturno da FOUSP, em especial a **Luis Guilherme B. Lauretti e Flor Luigina H. V. dos Santos**, pelo comprometimento e parceria. Obrigado por todos esses anos.

A todos os **Professores** da **disciplina** de **Endodontia** da Faculdade de Odontologia da USP pela valiosa contribuição à minha aprendizagem e desenvolvimento, o meu sincero agradecimento.

A **Profa. Dra. Silvana Cai**, pela paciência, amizade e apoio em me ensinar os caminhos da microbiologia. Este trabalho só foi completo devido a sua preciosa ajuda, agradeço de coração.

A todos os **Professores** do **departamento de Dentística** da Faculdade de Odontologia da USP pela ajuda, aprendizagem, respeito e incentivo. Muito obrigado.

Aos colegas e amigos do curso de pós-graduação em Endodontia da FOUSP, **Isabel Melo, Suely Miyagi, Denise Raldi, Patrícia Monteiro e Rocio Zaragoza**.

Aos atuais e ex-membros da equipe da **disciplina** de **Endodontia** da **UNISANTA**, nossa família endodôntica é grande, forte e digna. Obrigado a todos.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Laboratório Especial de Lasers em Odontologia (LELO)**, em especial seus funcionários **Lili** e **Aroldo**, que com carinho e paciência ajudaram a tornar este estudo possível. Obrigado pelos anos de trabalho.

Aos **funcionários** do departamento de Dentística da FOSUP, pela preciosa e sincera ajuda, em especial a **Ana Maria, Davi, Luizinho, Sônia** e **Aldo**. Vocês são engrenagens importantes no bom funcionamento de vossa estrutura.

Aos **funcionários** do **CTR** do **IPEN**, em especial ao **Paulo** e a **Yasko** do irradiador gama, pela atenciosa e prestativa ajuda na esterilização. Vossa dedicação é um exemplo de profissionalismo. Obrigado.

Aos **funcionários** do consultório, **Hilda, Cássia, Juarez** e **Adriana**, amigos comprometidos que constantemente me apóiam e auxiliam. Vossa ajuda é de extrema importância para nosso sucesso.

Ao Mestre e aluno de doutorado **Sérgio Botta**, voluntário do **Banco de Dentes** da **FOUSP**, pela importante ajuda na obtenção dos dentes. Obrigado pela paciência e companheirismo.

Aos **professores** e **funcionários** do **ICB II**, departamento de Microbiologia, pelo auxílio e convivência, em especial ao **João**, grande figura.

A **Profa. Dra. Míriam Lacalle Turbino** pela essencial análise e interpretação estatística, meus agradecimentos.

A **Profa. Dra. Márcia Martins Marques**, pelos sábios ensinamentos e orientações, além das aulas de redação científica. Serei eternamente grato.

A bibliotecária **Vânia M. B. de Oliveira Funaro** e todos os **funcionários** da **biblioteca** da **FOUSP** e **SDO** pela correção e formatação da pré-tese com agilidade e perfeição. Um grande abraço ao **Pascoal**.

A todos os **professores** e **funcionários** da **FOUSP** que de alguma maneira me ajudaram a crescer e realizar projetos em nossa casa. Agradeço sinceramente.

**A todos os meus queridos amigos e amigas**, que sempre me apoiaram e compreenderam durante esta importante jornada. Nossa irmandade é eterna e fica mais forte a cada segundo que passa. Obrigado por vocês existirem e enriquecerem minha vida.

A querida **Dania**, pela compreensão, apoio, auxílio, companheirismo e amizade nos momentos fáceis e difíceis, dando carinho e suporte para a boa realização das tarefas. Muito obrigado.

À **CNPQ** pela bolsa de Doutorado no programa de Demanda Social.

*“Se eu não fosse imperador,  
desejaria ser professor.  
Não conheço missão mais nobre  
que a de dirigir as inteligências juvenis  
e preparar os homens do futuro”.*

D. Pedro II

*“O começo de todas as ciências é  
o espanto de as coisas serem o que são”.*

Aristóteles

*“Se a experiência funcionou na primeira tentativa,  
tem algo errado”.*

Joseph Murphy

Aun CA. Influência da irradiação com lasers de alta potência na microinfiltração bacteriana e fúngica em dentes humanos retrobturados com MTA [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

## RESUMO

Este estudo experimental avaliou, *in vitro*, a microinfiltração de *E. faecalis* e *C. albicans* em raízes cujas superfícies apicais ressectadas e retropreparadas para obturação retrógrada sofreram irradiação dos lasers Nd:YAG, Diodo 810 nm e Er,Cr:YSGG, e posteriormente retrobturadas com MTA. Setenta raízes foram instrumentadas, obturadas endodonticamente, apicectomizadas e receberam retropreparos com pontas ultra-sônicas diamantadas e lisas na potência média. A divisão dos espécimes se deu de acordo com o laser utilizado e o tipo de microorganismo. Os grupos G1 e G5 não foram irradiados, G2 e G6 irradiados com Nd:YAG, G3 e G7 com Diodo e G4 e G8 com Er,Cr:YSGG (n = 8). Foram utilizados controles positivo (n = 3) e negativo (n = 3). Todos os procedimentos operatórios foram realizados com um dispositivo de simulação de dificuldades operatórias. Após a impermeabilização, colagem das raízes em tubos preparados, esterilização e retrobturação com MTA branco, o sistema de câmaras superior, contendo o inóculo de microorganismos, e inferior, contendo meio esterilizado foi montado em contato com o ápice. Os grupos G1 a G4 foram inoculados com *E. faecalis*, e os grupos G5 a G8 com *C. albicans*. A troca de meio na câmara superior se deu a cada 3 dias e a verificação da turvação do meio inferior era diária, por um período de 60 dias. Ao final, os resultados indicaram que: o controle positivo apresentou 100% de microinfiltração, o controle negativo não microinfiltrou e os grupos experimentais apresentaram padrões de microinfiltração que variaram entre 50% (G1) e 100% (G2) de microinfiltração, onde 68,75% do total de espécimes microinfiltraram. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos aplicando-se os testes Exato de Fischer e Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ ) em nenhuma interação. Pode-se concluir que o tratamento das retrocavidades e superfície apical ressectada, com os lasers utilizados neste estudo, não alterou o padrão de microinfiltração das retrobturações com MTA frente a *E. faecalis* e *C. albicans*. O tipo de microorganismo utilizado também não alterou a quantidade de espécimes microinfiltrados.

Palavras-Chave: Infiltração Dentária; Lasers; Endodontia.

Aun CA. High power lasers Influence in bacterial and fungal microleakage in MTA retrofills [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

## ABSTRACT

This *in vitro* experimental study evaluated the microleakage of *E. faecalis* and *C. albicans* in roots whose resected apical surfaces and retrocavities had suffered irradiation from Nd:YAG, Diode 810 nm and Er,Cr:YSGG lasers, and later retrofilled with MTA. Seventy roots had been prepared, obturated, had suffered apicoectomy and were retroprepared with diamond and conventional ultra-sonic tips in the average power. The division of specimens was in accordance with the used laser and the type of microorganism. The groups G1 and G5 had not been irradiated, G2 and G6 irradiated with Nd:YAG, G3 and G7 with Diode and G4 and G8 with Er, Cr:YSGG (n = 8). Positive (n = 3) and negative (n = 3) controls had been used. All procedures executed until this point had been carried inside an access difficulties simulation device. After the waterproofing, attachment of the roots in prepared tubes and sterilization, the retrofillings were made using white MTA. The superior chambers were inoculated with the microorganisms and inferior chambers were completed with sterile culture broth in contact with the root tip. The G1, G2, G3 and G4 groups had been inoculated with *E. faecalis* and the rest of the groups with *C. albicans*. The contaminated broths of the upper chambers were exchanged each 3 days and for 60 days the verification of the turbidity in the inferior chambers was evaluated daily. At the end, the results had indicated that: the positive control had 100% microleakage, the negative control none and the experimental groups had presented microleakage patterns that range from 50% (G1) to 100% (G2), with a total of 68.75% of all specimens presenting microleakage. Applying the Exact Fischer test and Kruskal-Wallis test ( $p > 0,05$ ), no significant statistical difference between the groups were observed in any interaction. It can be concluded that the treatment of the retrocavities and resected apical surface, with the lasers used in this study, did not modify the rate of *E. faecalis* and *C. albicans* microleakage in MTA retrofillings. Also the type of used microorganism did not seem to modify the amount of microleakage in the specimens.

Key-Words: Dental Leakage; Lasers; Endodontics.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 - (A) Esquema ilustrativo do dispositivo de simulação de dificuldades operatórias. (B) Raiz inserida no dispositivo com terço apical demarcado. (C) Retropreparo com ponta ultra-sônica..... 60
- Figura 4.2 - (A) Laser Nd:YAG. (B) Laser Er,Cr:YSGG. (C) Laser Diodo 810 nm..... 62
- Figura 4.3 - (A) Silicone pesada vedando a interface tubo/vidro. (B) Tubo eppendorf (câmara superior). (C) Inóculo de microorganismos. (D) Entrada cervical do canal. (E) Interface tubo/raiz selada com Super-Bonder® em gel e duas camadas de esmalte de unha. (F) Meio de cultura esterilizado. (G) Superfície apical ressectada. (H) Vidro de penicilina (câmara inferior)..64
- Figura 5.1 - Espécime microinfiltrado (direita) comparado a outro sem microinfiltração..... 68

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 4.1 - Distribuição dos espécimes nos grupos experimentais.....	61
Tabela 5.1 - Número e percentual de espécimes infiltrados por grupo .....	70
Tabela 5.2 - Interação estatística entre os grupos que utilizaram <i>E. faecalis</i> .....	70
Tabela 5.3 - Interação estatística entre os grupos que utilizaram <i>C. albicans</i> .....	71
Tabela 5.4 - Tempo, em dias corridos, que cada espécime demorou a microinfiltrar...	72
Tabela 5.5 - Alcance entre o primeiro e o último espécime microinfiltrado e tempo médio de microinfiltração por grupo.....	72

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
CRT	comprimento real de trabalho
EDTA-T	Ácido etilenodiamino tetra-acético e Tergentol
Endo-PTC	Peróxido de Uréia, Tween 80 e Cardowax
Er,Cr:YSSG	Laser de Érbio Cromo
Er:YAG	Laser de Érbio
EVA	Ethyl Violet Azide
GaAlAs	Laser Diodo de baixa potência
h	horas
Hz	Hertz
IRM	Intermediate Restorative Material
J/cm <sup>2</sup>	Joules por centímetro quadrado
KGy	Kilogray
LPS	Lipo-Poli-Sacarides
Min	minutos
mJ	milijoule
mL	mililitro
mm	milímetro
mm/seg	milímetro por segundo
mseg	milisegundo
MTA	mineral trioxide aggregate
n	número de espécimes

nm	nanometro
Nd:YAG	Laser de Neodímio
P	Potência
seg	segundo
TNT	Tecido não Tecido (100% polipropileno)
TSA	Trypitic Soy Agar
TSB	Trypitic Soy Broth
W	Watts
μL	microlitro
μm	micrometro
μseg	microsegundo
°C	graus Celsius
#	número

# SUMÁRIO

p.

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>21</b>
2.1 Índices de sucesso e divergências relacionadas à retratamento e cirurgia apical.....	21
2.2 Técnica operatória referente ao manejo do ápice e retrocavidade .....	25
2.3 Propriedades e uso do MTA como material retrobturador .....	29
2.4 Lasers de alta potência na endodontia e cirurgia apical .....	38
2.5 Estudo da microinfiltração <i>in vitro</i> .....	45
<b>3 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>55</b>
4.1 Material.....	55
4.2 Métodos .....	58
4.2.1 Metodologia de contaminação e comprovação da microinfiltração .....	65
4.2.2 Análise estatística .....	67
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>68</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>92</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>102</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As ciências odontológicas passam por um momento único e revolucionário em sua história. O avanço da informação e da tecnologia disponível ao cirurgião-dentista aumentou significativamente o índice de sucesso da técnica endodôntica, possibilitando salvar mais dentes e resolver, com sucesso, grande parte das patologias encontradas. Por outro lado, atualmente existe uma tendência que indica a extração de dentes “duvidosos” do ponto de vista endodôntico, na idéia de substituí-los por implantes osteo-integrados de maior previsibilidade.

Devido ao fato do dente humano ser o principal responsável pelo adequado funcionamento do sistema mastigatório, o principal foco de pesquisas e estudos deve ser em recursos, materiais e técnicas que possibilitem sua manutenção. A permanência do elemento dental é de grande valia para as Ciências Odontológicas e saúde do ser humano, louvando a verdadeira competência de um Cirurgião-Dentista.

Mesmo com o aumento do índice de sucesso da terapia endodôntica ao longo dos anos, o fracasso ainda persiste. Neste caso, realiza-se minucioso exame clínico e radiográfico, opta-se preferencialmente pelo retratamento não-cirúrgico quando possível ou viável e observa-se constantemente a resposta do dente, sendo estes passos de fundamental importância para o preciso diagnóstico e futura indicação terapêutica, quando necessário. Contudo, após uma adequada abordagem conservadora, certas condições extremas requerem a intervenção

cirúrgica periapical como última tentativa de manutenção do dente. Especialmente em infecções refratárias, patologia de difícil resolução via retratamento não-cirúrgico, devido à presença de biofilme intra e extra-radicular, a indicação da apicectomia, retropreparo e obturação retrógrada é consenso na moderna técnica cirúrgica endodôntica. No entanto, a técnica de manejo do ápice ressectado e o material retrobturador podem definir o sucesso ou fracasso da cirurgia apical. Por este motivo, e visando sempre a manutenção do dente, mais estudos acerca da técnica cirúrgica e dos materiais utilizados devem ser conduzidos.

A década de 90 foi importante no sentido de definir as novas bases da cirurgia apical moderna. A utilização de brocas carbide multi-laminadas em alta-rotação refrigerada, o corte do ápice perpendicular ao longo eixo da raiz, o refinamento da apicectomia com brocas de acabamento e a utilização de pontas ultra-sônicas específicas para o retropreparo foram grandes inovações que comprovadamente podem melhorar o prognóstico da cirurgia apical. Conjuntamente, o desenvolvimento e avaliação do MTA como novo material retrobturador, com características adequadas para utilização em cirurgia apical, é de grande importância na tentativa de selar o sistema de canais remanescente.

A retrobturação, a ser realizada em ambiente de difícil acesso e na presença de sangue, requer o uso de um material selador adequado a este meio. Idealmente, este material deve minimizar ao máximo a microinfiltração, ter estabilidade dimensional, radiopacidade, atividade antimicrobiana, não sofrer alteração em meio úmido e ser biocompatível. Vários tipos de materiais foram testados e usados em retrobturação nos últimos 20 anos, contudo o MTA parece ser continuamente indicado para esta finalidade, pois apresenta boa capacidade

seladora apical, boa radiopacidade, boa estabilidade dimensional, excelente tolerância tecidual e o mais importante: sua presa completa requer 100% de umidade.

Outra possibilidade de favorecer o sucesso em cirurgias apicais foi observada quando os lasers de alta potência foram introduzidos na Endodontia. Sua principal função é a possibilidade de descontaminar a superfície apical ressectada e a retrocavidade previamente à retrobturação, efeito este comprovado ao longo de 15 anos de estudos.

Por meio da capacidade de aumentar significativamente a temperatura em seu foco de ação, a irradiação com os lasers Nd:YAG (1064 nm) ou Diodo GaAlAs (810 nm) provoca este efeito anti-microbiano e ainda, uma fusão e derretimento superficial dos túbulos dentinários, podendo reduzir a permeabilidade dentinária na região irradiada. O laser de érbio cromo (Er,Cr:YSSG – 2780nm) foi lançado recentemente no mercado mundial, e vem sendo utilizado sob diversas propostas. Com importante capacidade de ablação da dentina radicular e mínimo dano a tecidos adjacentes, este tipo de laser pode ser indicado para cirurgia apical. Essa ablação, além de ser bactericida, promove remoção da camada de *smear layer*. O mesmo laser, mas com outros parâmetros, também parece conseguir um selamento superficial dos túbulos dentinários.

O estudo de Aun e Silva (1995) foi um dos pioneiros no Brasil a reportar os efeitos do laser de alta potência sobre a microinfiltração retrógrada, e deu início a esta linha de pesquisa. Em estudo prévio, Aun, Aun e Poloniato (2004) avaliaram, *in vitro*, a capacidade seladora, frente à infiltração com corante, de materiais retrobturadores com a irradiação prévia de laser CO<sub>2</sub>, mostrando ser a irradiação

laser com o MTA o grupo com menor infiltração linear e por área, de acordo com a metodologia do estudo. A diferença dos grupos MTA frente aos outros materiais foi estatisticamente significativa, porém o mesmo não se observou em relação à irradiação ou não de laser CO<sub>2</sub>. Recentemente, Aun, Gavini e Aun (2004) demonstraram uma significativa redução na microinfiltração de corante em retrobturações de MTA com a prévia irradiação dos lasers de Nd:YAG e Diodo 810nm.

Grande parte dos estudos sobre microinfiltração em retrobturações usa como metodologia de avaliação a profundidade de penetração linear de diversos tipos de corantes, marcadores ou isótopos na interface do material com a dentina. Porém, Wu e Wesselink (1993) ressaltam que estes métodos não são totalmente quantitativos e não seguem uma padronização. Colocam, ainda, que devemos procurar simular ao máximo as condições *in vivo* nos estudos experimentais *in vitro*. Novas metodologias utilizando bactérias ou suas endotoxinas têm sido empregadas para tentar superar, em parte, as limitações dos trabalhos *in vitro* e produzir avaliações qualitativas e quantitativas mais confiáveis. Diversos tipos bacterianos penetram completamente no sistema de canais obturados em alguns dias, sendo verificada a contaminação da câmara inferior ao longo do experimento, consagrando esta metodologia como passível de ser utilizada e reproduzida. Desta maneira, o uso de enterobactérias e fungos, os quais são constantemente isolados de infecções refratárias, deve ser priorizado em avaliações de microinfiltração retrógrada *in vitro*.

Devido ao fato do insucesso de cirurgias apicais ainda ser uma infeliz realidade na clínica odontológica mundial, estudos que possam melhorar a técnica

e o índice de sucesso para esta modalidade terapêutica são de relevante necessidade. O estudo da aplicação de lasers de alta potência no tratamento apical, na tentativa de se diminuir a microinfiltração microbiana de *E. faecalis* e *C. albicans* em condições laboratoriais simuladas, pode efetivamente contribuir para o desenvolvimento e progresso do tema na ciência endodôntica contemporânea.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Índices de sucesso e divergências relacionadas à retratamento não-cirúrgico e cirúrgico**

Até os dias atuais, onde a Endodontia alcança um alto índice de sucesso, muito se discute acerca das propostas terapêuticas, suas indicações e índices de sucesso. “Retratar ou operar?”. Esta pergunta célebre atormenta endodontistas até hoje. Existe um consenso atual que indica primeiro o retratamento não-cirúrgico, para a maioria dos casos de insucesso, mesmo que posteriormente se proponha uma cirurgia apical. Ou seja, a apicectomia e retrobturação somente devem ser realizadas após um bom retratamento, quando possível. Todavia, em certas ocasiões extremas, a cirurgia apical tem suas indicações precisas e específicas. Porém, os índices de sucesso ou fracasso relacionando retratamentos não-cirúrgicos ou cirúrgicos estão em constante controvérsia, sendo esta capaz de criar diversos estudos voltados a este tema.

Analisando estatisticamente 1300 casos de retratamento cirúrgico ou não-cirúrgico, Allen, Newton e Brown Jr. (1989) examinaram prontuários e radiografias de retratamentos endodônticos e tabularam diversos fatores que poderiam ter afetado o índice de sucesso. Os resultados foram analisados sob diversos testes estatísticos no computador. Os retratamentos realizados com guta-percha

alcançaram um índice de 72,2% de sucesso, enquanto os tratados cirurgicamente com retrobturação chegam a 60%, não havendo diferença estatística entre eles. Os autores colocam que mais de 50% dos retratamentos necessitou de alguma complementação cirúrgica e que 100% dos retratamentos prévios que falharam foram tratados cirurgicamente.

Revisando aspectos clínicos acerca da apicectomia e manejo da superfície apical ressectada, Gutmann e Pitt Ford (1993) discorreram diversos tópicos relacionados as dificuldades, variabilidades e técnicas que cercam esse tipo de procedimento. Dentre eles, os principais: indicações, conseqüências, técnica, anatomia macroscópica e microscópica da superfície ressectada e suas considerações clínicas. Ressaltam o uso racional da indicação e uma técnica apurada e atual embasada em artigos científicos e experiência clínica. Concluem que a apicectomia, ou ressecção apical, é um procedimento altamente desejável, do ponto de vista clínico e biológico, quando se busca minimizar os fatores irritantes locais e melhorar a cura periapical.

A literatura específica relacionada à resolução de fracassos endodônticos tratados cirurgicamente ou não foi revisada por Hepworth e Friedman (1997), os quais selecionaram trabalhos científicos seguindo um critério de exclusão. Após cruzar e traçar médias de todos os índices de sucesso, os resultados foram divididos em resolução de fracassos endodônticos retratados convencionalmente ou cirurgicamente. Nos retratamentos convencionais o índice de sucesso médio foi de 82%, porém, quando uma lesão ou radioluscência apical se encontrava associada, o sucesso caiu para 66%. O índice de sucesso nos casos estritamente cirúrgicos foi de 59%, porém, quando a cirurgia era realizada associada a um

retratamento convencional, o sucesso subia para 81%. Os autores criticaram a falta de padronização dos estudos e o emprego de técnicas obsoletas comparadas às da atualidade na época.

Comparando os resultados de tratamentos não-cirúrgicos ou cirúrgicos em um estudo clínico randomizado, Kvist e Reit (1999) procuraram achar uma diferença sistemática entre os métodos. Quarenta e cinco dentes anteriores foram tratados cirurgicamente e 47 não cirurgicamente. Os fatores de randomização foram: tamanho da radiolusclência periapical, a posição apical e a qualidade técnica da obturação. Todos os pacientes foram controlados clínica e radiograficamente por 6, 12, 24 e 48 meses. Todas as radiografias foram examinadas por 2 avaliadores calibrados e os testes estatísticos aplicados. Em 12 meses de avaliação, uma taxa de cura estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ) foi atribuída ao grupo cirúrgico, quando comparado ao não-cirúrgico. No tempo final de 48 meses, essa diferença já não existia mais e o índice de sucesso ficou entre 50-60%. Os autores não encontraram diferenças sistemáticas entre os métodos.

Monitorando por 3 anos os resultados de cirurgias periapicais realizadas com tecnologia microscópica e retropreparo com pontas de ultra-som, Maddalone e Gagliani (2003) procuraram determinar o índice de sucesso desse método. Após a seleção de casos, os pacientes foram operados utilizando-se lupas de 4X, pontas ultra-sônicas e Super-EBA como material retrobturador. Todos os casos foram acompanhados clínica e radiograficamente por 1, 3, 6, 12, 24 e 36 meses e as radiografias examinadas por 2 especialistas com experiência. Cento e vinte dentes de todos os tipos conseguiram ser avaliados por 36 meses e obtiveram 92,5% de sucesso, onde 66,66% destes apresentaram cura após 12 meses.

Mead et al. (2005) procuraram por artigos clínicos que conectassem sucesso e fracasso de cirurgias periapicais e retratamentos e atribuíram níveis de evidência para esses estudos, exceto em relatos de caso. Pesquisas eletrônicas e manuais em diversas bases de dados foram realizadas, levantando-se artigos desde 1970 até 2003 seguindo um critério de seleção. Uma escala estratificada de níveis de evidência foi criada para determinar o grau de importância e confiabilidade dos estudos, baseando-se em seu grau de evidência clínica, de acordo com o método de seleção, controle e avaliação dos casos. No total, 79 artigos foram selecionados e nenhum foi atribuído com o grau máximo de nível de evidência. Para 7 deles foi atribuído o segundo nível, para 12 o terceiro nível e para 60 o quarto nível. Os autores concluíram que pouquíssimos estudos de alto nível comparam o sucesso e fracasso de cirurgias apicais *versus* retratamentos, advertindo que os principais fatores limitantes dos estudos são: o uso de radiografias e o tempo de avaliação. Concluíram ainda que a cirurgia periapical parece ser efetiva para se salvar dentes humanos naturais.

Na tentativa de encontrar, clínica e radiograficamente, fatores que possam prever a cura de tratamentos endodônticos cirúrgicos, von Arx, Jensen e Hänni (2007) acompanharam, durante um ano, 191 dentes que sofreram apicectomia, retropreparo ultra-sônico e retrobturação com Super-EBA, MTA ou um compósito resinoso (Retroplast). Diversos dados, obtidos no pré e pós-operatório, sobre os pacientes e seus dentes tratados foram tabulados e submetidos a testes estatísticos através de logísticas de regressão. O índice de sucesso geral foi de 83,8%, e o fator “dor no exame pré-operatório” foi o único preditivo que significativamente ( $p = 0,04$ ) diminuiu a taxa de cura das cirurgias apicais. Os

predicativos: tamanho da lesão, material retrobturador e percurso de cura pós-operatória foram quase significantes ( $p = 0,06$ ).

## **2.2 Técnica operatória referente ao manejo do ápice e retrocavidade**

Quando os critérios conservadores já foram adotados na tentativa de se manter um dente com insucesso endodôntico, e o mesmo persiste com sinais, sintomas e/ou radioluscência periapical, a cirurgia apical é indicada como derradeira opção de manutenção do elemento dental. Muitos detalhes e fatores podem interferir na qualidade e previsibilidade dos passos cirúrgicos de um procedimento dessa natureza. A apicectomia, manejo da superfície ressectada, retroinstrumentação, retropreparo, e retrobturação podem, independentemente ou concomitantemente, alterar de maneira decisiva o resultado ou prognóstico do tratamento cirúrgico periapical. Cada um desses procedimentos já sofreu diversas alterações ao longo do progresso científico, e ainda continuam a surgir novas opções em todos os segmentos operatórios.

Comparando duas técnicas de retropreparo em dentes de cadáveres humanos, Wuchenich, Meadows e Torabinejad (1994) avaliaram o uso de brocas ou pontas ultra-sônicas lisas na confecção de 20 retrocavidades ( $n = 10$ ). Os dentes receberam os preparos, foram extraídos, ressectados longitudinalmente e preparados para MEV. Os critérios de avaliação foram: retenção, limpeza e paralelismo. Os resultados evidenciaram a superioridade das cavidades efetuadas

por pontas ultra-sônicas, que demonstraram paralelismo, profundidade uniformemente maior e grande quantidade de túbulos dentinários abertos.

A topografia de superfícies apicais ressectadas e refinadas com diversos tipos de brocas foi avaliada por Morgan e Marshall (1998). Três grupos experimentais (n = 12) foram divididos de acordo com o tipo de broca para ressecção: broca de Lindman, broca multi-propósito e broca #57, todas de carbide multi-laminadas. Após a ressecção, réplicas da superfície apical eram obtidas por meio de moldagem com silicone tipo polivinilsiloxano. Em cada grupo, dois subgrupos (n = 6) foram criados de acordo com a broca de refinamento: carbide multi-laminada fina ou broca diamantada de acabamento. Novas réplicas foram obtidas, todas foram examinadas em microscópio e os dados tratados estatisticamente. A broca de Multi-propósito produziu a superfície mais lisa e plana. A broca de refinamento de carbide produziu as superfícies mais lisas.

Continuando seu estudo prévio, Morgan e Marshall (1999) avaliaram a formação de *cracks* em 25 ápices ressectados com broca carbide multi-laminada e retropreparados com ponta ultra-sônica *in vivo*. Durante os atos cirúrgicos, impressões da superfície apical eram tomadas após a apicectomia e o retropreparo, respectivamente. Posteriormente, réplicas eram criadas e analisadas em MEV. Não foram observadas evidências de *cracks* após a apicectomia e somente um *crack* incompleto de canal foi observado após o retropreparo.

Testori et al. (1999) procuraram avaliar, em um estudo longitudinal retrospectivo, o índice de sucesso de 302 cirurgias apicais, tendo como diferencial o tipo de retropreparo: com brocas ou pontas ultra-sônicas. Os resultados das cirurgias foram avaliados radiograficamente por 4,6 anos em média. Os achados

foram classificados em 4 grupos (da cura total até o fracasso) e os dados tratados estatisticamente. O índice de sucesso nos casos tratados com brocas foi de 68% e com ultra-som de 85%, havendo diferença significativa. Os autores também observaram que o sucesso aumentou quando o tempo de avaliação se estendeu.

A incidência de *microcracks* e microinfiltração em retropreparos realizados com pontas ultra-sônicas lisas, diamantadas ou brocas de aço em alta rotação foi comparada por Rainwater, Jeansonne e Sarkar (2000). Cento e vinte raízes foram instrumentadas, obturadas e sofreram apicectomia com brocas carbide em alta rotação. Sessenta raízes (n = 20) tiveram a superfície apical corada com tinta Pelikan, foram fotografadas e analisadas após a apicectomia. O mesmo procedimento foi efetuado após retropreparo com os dois tipos de pontas ultra-sônicas, na potência mínima, e a broca. Outras 50 raízes (n = 25) sofreram retropreparo com os dois tipos de pontas ultra-sônicas, foram retrobturadas com Super-EBA, impermeabilizadas, coradas, diafanizadas e observadas em microscópio. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para o número ou tipo de *microcracks* e microinfiltração de corante entre os tipos de retropreparo.

Gondim Jr., Kin e Souza-Filho (2005) investigaram quantitativamente a microinfiltração em raízes retrobturadas com IRM, Super-EBA ou MTA e refinadas ou não com brocas. Três grupos experimentais, com 27 raízes que sofreram apicectomia e retropreparo ultra-sônico, foram determinados de acordo com o material retrobturador utilizado. Três novos subgrupos (n = 9) foram criados, e dois deles receberam acabamento com broca #9642 multi-laminada ou broca Zekrya. Os 4mm finais de cada ápice foram ressectados e imersos em azul de metileno a 2% por 12 horas. Os ápices foram lavados, moídos a pó e imersos em álcool

absoluto por 24 horas para permitir a diluição de todo corante impregnado. Após centrifugação, o sobre-nadante foi observado em espectrofotômetro calibrado e a quantidade de corante verificada. Os dados foram tratados estatisticamente. O MTA demonstrou, significativamente ( $p < 0,05$ ), o menor grau de microinfiltração e o IRM e Super-EBA não apresentaram diferença entre si. O uso de brocas de acabamento não alterou os valores de microinfiltração das raízes pela metodologia proposta.

Leite e Gavini (2006) avaliaram *in vitro* a regularidade da superfície radicular e a quantidade de trincas após retropreparo com ultra-som em 3 diferentes potências, empregando-se 2 tipos de pontas. Trinta caninos foram preparados, obturados e apicectomizados com brocas carbide em alta rotação. Todas as superfícies apicais foram observadas ao microscópio (X40) e não apresentaram trincas. Os dentes foram divididos em dois grupos ( $n = 15$ ), a saber: grupo A ponta lisa e B diamantada e destes, 3 grupos foram subdivididos de acordo com a potência ultra-sônica: alta, média e baixa. Após a realização dos retropreparos, a presença de trincas e a regularidade do preparo foram observadas ao microscópio óptico (X56). Dos dentes retropreparados com ponta lisa, 11 apresentaram preparos regulares, contra 4 espécimes preparados com ponta diamantada, sendo a diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Todos os espécimes apresentaram trincas após o retropreparo, não havendo diferença entre as pontas nas potências utilizadas.

Num estudo que avaliou a incidência de *microcracks*, a microinfiltração de materiais retrobturadores e a microestrutura da superfície dos materiais retrobturadores, Tobóm-Arroyave et al. (2007) procuraram por fatores que

poderiam afetar a qualidade do selamento retrógrado. Dois grupos (n = 46) foram divididos de acordo com o material obturador: sistema Thermafil ou guta-percha condensada lateralmente. Todas as raízes sofreram apicectomia com brocas diamantada em alta rotação e retropreparo com pontas ultra-sônicas. Três novos subgrupos (n = 24) foram criados de acordo com o material retrobturador: IRM, Super-EBA e MTA. Após retrobturação, todas as raízes permaneceram em *Indian ink* por 7 dias e as superfícies avaliadas. Os espécimes foram seccionados longitudinalmente e observados em MEV. Os autores relatam que, apesar da espessura de dentina ser similar nos dois grupos, o grupo Thermafil apresentou significativamente ( $p < 0,05$ ) mais *microcracks*. Super-EBA e IRM apresentaram significativamente melhor adaptação e menor infiltração que o MTA. O maior tempo requerido pela ponta ultra-sônica para remover a obturação Thermafil, durante o retropreparo, pareceu ter relação direta com a maior formação de *microcraks*.

### **2.3 Propriedades e uso do MTA como material retrobturador**

Uma técnica apurada para o correto manejo de ápices, superfícies ressectadas e retropreparos é fundamental para se aumentar o índice de sucesso de cirurgias apicais. Porém, outro fator decisivo entra em questão quando se espera um ótimo selamento e reparação apical: o material retrobturador. Este material deve possuir propriedades que permitam: vedamento de cavidades

dentinárias em sítios úmidos, estabilidade dimensional na umidade, fácil manipulação, não sofrer corrosão, não ser citotóxico ou carcinogênico, ser radiopaco e não ser reabsorvível. Talvez a característica mais importante do material retrobturador seja: o *sucesso em longo prazo*, característica esta muito pouco estudada e avaliada na literatura. Diversos materiais foram propostos como retrobturadores, mas sabe-se que o material ideal ainda não foi desenvolvido. Sendo assim, todos os materiais apresentam pontos favoráveis e desfavoráveis.

Desde os anos 90, um novo e revolucionário material entrou em cena na literatura e, posteriormente, no mercado mundial. O mineral trióxido agregado, ou MTA, possui diversos pontos favoráveis à retrobturação e têm sido constantemente indicado para tal. Desde então, diversos estudos têm avaliado suas propriedades e desempenho frente a diversas situações laboratoriais ou clínicas.

Torabinejad, Watson e Pitt Ford (1993) avaliaram a capacidade seladora do MTA, Super-EBA e amálgama, como materiais retrobturadores, frente à infiltração de corante. Com grupos de 10 raízes processadas até o retropreparo com brocas, as retrobturações foram realizadas e os espécimes permaneceram em Rodamina B fluorescente por 24 h. Em avaliação, sob microscópio, das raízes seccionadas, os autores concluíram que o MTA apresentou significativamente ( $p < 0,05$ ) menor microinfiltração e melhor adaptação marginal.

Continuando o estudo anterior, Torabinejad et al. (1994) procuraram verificar se a presença ou não de sangue na retrocavidade poderia afetar a microinfiltração do MTA, amálgama, Super-EBA e IRM. Grupos de 10 raízes apicectomizadas e retropreparadas com brocas foram retrobturadas, com os

respectivos materiais, na presença constante ou não de sangue. Após impermeabilização e imersão em azul de metileno a 1% por 72 h, todas as raízes foram seccionadas e analisadas em microscópio ótico, revelando ser o MTA o material que apresentou o menor nível de microinfiltração, tanto na presença como na ausência de sangue, porém, não houve diferença estatística entre os materiais.

Torabinejad et al. (1995d) também investigaram a adaptação marginal de IRM, Super-EBA, MTA e amálgama quando usados como materiais retrobturadores. Quarenta dentes foram processados até o retropreparo com brocas e receberam os materiais. Todos foram seccionados, desidratados e observados em MEV. Outros 48 dentes unirradiculares foram processados até a retrobturação da mesma maneira, impressões em resina epóxi foram tomadas e réplicas em resina foram observadas em MEV. Após o tratamento estatístico das médias das distâncias dos *gaps*, os resultados demonstraram que o MTA foi significativamente ( $p < 0,05$ ) superior na capacidade de se adaptar as paredes da retrocavidade.

Para desmistificar as propriedades físicas e químicas do MTA, Torabinejad et al. (1995a) determinaram a composição química, pH e radiopacidade do novo material retrobturador, além de comparar seu tempo de presa, resistência a força compressiva e solubilidade com o amálgama, IRM e Super-EBA. Utilizando um espectrômetro dispersivo de raio-x em conjunto com um MEV, um pHgâmetro e valendo-se de diversos métodos, standardizações e especificações internacionais, os resultados mostraram que as principais moléculas do MTA são íons cálcio e fósforo. O pH inicial foi de 10,2, passando para 12,5 após 3 h de manipulação. O MTA se mostrou mais radiopaco que o Super-EBA e IRM e seu

tempo de presa foi de 2 h e 45 min. O MTA mostrou a menor resistência à força compressiva, mas esta foi aumentada depois de 21 dias. Todos os materiais, menos o IRM, demonstraram não serem solúveis.

No mesmo ano, Torabinejad et al. (1995b) avaliaram os efeitos antibacterianos do MTA, amálgama, Super-EBA e óxido de zinco e eugenol. Para isto utilizaram a metodologia de halos de inibição com os materiais frescos ou após 24 h de manipulação, colocando-os em contato em placas semeadas com 9 tipos de bactérias facultativas e 7 anaeróbias estritas. Os dados foram coletados em mm e analisados estatisticamente. Nenhum material foi completamente efetivo contra todas as bactérias, o que demonstra que a característica antimicrobiana não está presente nos materiais testados.

Continuando a série de estudos, Torabinejad et al. (1997) verificaram histologicamente a resposta dos tecidos perirradiculares de macacos frente o MTA e amálgama. Doze canais maxilares foram tratados pela técnica endodôntica convencional e as cavidades seladas. Retalhos foram abertos e os ápices apicectomizados e retropreparados com brocas, sendo metade das cavidades retrobturadas com MTA e amálgama respectivamente. Depois de 5 meses os blocos contendo as regiões apicais foram processados para análise histológica. Cinco das seis regiões do grupo MTA não mostraram nenhuma inflamação e as retrobturações foram cobertas com uma camada de cimento neoformado, enquanto todas do grupo amálgama demonstraram inflamação e nenhuma formação de cimento.

Finalmente, avaliando histologicamente a reação tecidual da tíbia e mandíbula de porcos da Guinéia frente a MTA, amálgama, IRM e Super-EBA,

Torabinejad et al. (1998) fecham o ciclo principal de estudos referentes ao uso clínico do MTA. Utilizaram 20 animais, os quais foram anestesiados, tiveram diversas cavidades ósseas preparadas na tíbia e receberam recipientes de teflon contendo os materiais, sendo estes voltados para o osso. Dez dias após, os animais receberam recipientes na mandíbula da mesma maneira descrita. Depois de 80 dias os blocos das regiões foram processados para histologia. Os resultados mostraram que a reação tecidual frente ao MTA foi a mais favorável entre todos os materiais, sendo a resposta inflamatória significativamente ( $p < 0,01$ ) menor. Foi observada também, formação de tecido mineralizado anexo ao MTA em 5 de 11 regiões na tíbia e 1 em 10 na mandíbula.

Bates, Carnes e del Rio (1996) verificaram a microinfiltração *in vitro* de amálgama com verniz, Super-EBA e MTA usando como mensuração um sistema de filtração de fluído. Setenta de duas raízes ( $n = 22$ ) foram obturadas, apicectomizadas com disco de diamante, retropreparadas com pontas ultrassônicas e retrobturadas. Todas foram impermeabilizadas e ligadas ao sistema de filtração de fluído, que recebia constante pressão de gás nitrogênio e movia a bolha, caso houvesse microinfiltração, através de uma micropipeta, sendo sua distância anotada por 24 h, 72 h, 2, 4, 8 e 12 semanas. Até o período de 2 semanas, o MTA e Super-EBA foram significativamente ( $p < 0,05$ ) superiores em prevenir a microinfiltração quando comparados ao amálgama.

Revisando a literatura, com foco em fatores que contribuam para o sucesso a longo prazo, de procedimentos cirúrgicos envolvendo materiais retrobturadores, Johnson (1999) coloca diversas considerações acerca da seleção desse tipo de material. O autor revisa o uso de amálgama, IRM e Super-EBA, resina composta e

MTA, assim como diversos outros fatores técnicos que podem alterar os resultados. Como conclusão, é expresso que a escolha do material adequado varia em cada caso e cada filosofia de trabalho, ressaltando as vantagens e desvantagens de cada material, e que não existe um consenso na literatura para a indicação de um material em especial, devido ao fato de não haver trabalhos em humanos bem controlados e por longos períodos. O MTA é colocado como um material novo com grande potencial de se tornar o material de escolha em retrobturações, devido a sua biocompatibilidade, indução de tecidos minerais, microinfiltração e adaptação marginal.

Comparando a capacidade de selamento do amálgama de prata, Super-EBA e MTA, Aqrabawi (2000) avaliou *in vitro* a penetração de corante nas interfaces retrobturadas. Três grupos de 25 dentes foram divididos de acordo com o material retrobturador. Todos os dentes foram instrumentados, obturados, apicectomizados com broca carbide, retropreparados com ultra-som e retrobturados. As raízes foram impermeabilizadas e, após 72 horas em azul de metileno a 1%, todas foram seccionadas, observadas em aumento de 10X e receberam um *score*. Todos os grupos apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre si, sendo a maior infiltração para o amálgama e a menor para o MTA.

A citotoxicidade do MTA, Super-EBA e amálgama de prata, frente a células humanas do ligamento periodontal, foi mensurada por Keiser, Johnson e Tipton (2000). Dois grupos, um com os materiais recém manipulados e outro com os mesmos após 24 h de manipulação, ambos sob diversas concentrações, foram processados para cultura de células PDL extraídas de dentes humanos. O teste de citotoxicidade se deu por meio de diluições de cultura com células viáveis em

contato com os materiais, que passavam por uma reação metabólica com um sal que liberava corante, passível de ser quantificado em espectrofotômetro. O MTA se mostrou significativamente ( $p < 0,05$ ) menos citotóxico no grupo de amostras frescas de baixa concentração e mais citotóxico após 24 h em alta e baixa concentração. Os autores suportam o uso de MTA em ambientes periapicais.

O efeito de um meio ácido na infiltração de diversos materiais retrobturadores foi avaliado por Roy, Jeansonne e Gerrets (2001). Seis grupos de 24 dentes foram instrumentados, obturados, apicectomizados e retropreparados com ultra-som. Os materiais usados foram: amálgama, Geristone, Super-EBA, MTA, Cimento de Fosfato de Cálcio (CFC) e MTA com matriz de CFC. Metade das raízes permaneceu por 24 h em meio com pH 5,0 e metade em meio com pH 7,4. Após impermeabilização, todos ficaram imersos em tinta Pelikan por 5 dias, foram diafanizados e observados em microscópio. Os valores médios de infiltração linear foram tabulados e tratados estatisticamente. O meio ácido não alterou os valores de infiltração de todos os materiais e o MTA e Super-EBA se mostraram significativamente com menor microinfiltração nos dois meios.

Buscando confirmar a biocompatibilidade do MTA quando usado em retrobturações *in vivo*, Economides et al. (2003) verificaram a resposta perirradicular a curto prazo do MTA e IRM em dentes caninos hígidos. Dois cães foram selecionados, sedados, tiveram 21 dentes tratados endodonticamente e selados. Durante o mesmo ato, foram realizados acessos aos ápices, que foram ressectados e retrobturados com MTA ( $n = 14$ ) ou IRM ( $n = 8$ ). Após 1-2 semanas ou 3-4 semanas, os blocos de mandíbula foram processados para histologia e outros avaliados em MEV. O MTA se mostrou significativamente mais

biocompatível que o IRM, produzindo muito pouca inflamação, formação de osso e formação de tecido mineralizado sobre o material em todos os espécimes no tempo de 3-4 semanas.

Os autores Valois e Costa Jr (2004) avaliaram a influência da espessura de MTA na microinfiltração retrógrada. Quatro grupos (n = 15) de dentes foram instrumentados, apicectomizados e os retropreparos realizados com broca carbide 330 em 4 diferentes profundidades: de 1 a 4 mm respectivamente. Todos foram retrobturados com MTA, impermeabilizados e montados em aparatos para infiltração: câmara superior contendo proteína-corante e o ápice e câmara inferior contendo água destilada e reagente. A avaliação se deu por 60 dias e o tempo para infiltração foi tabulado e tratado estatisticamente. A espessura de 4 mm preveniu significativamente ( $p < 0,05$ ) a infiltração perante todos os grupos. Os grupos de 2 e 3 mm foram melhores que o de 1 mm mas piores que o de 4 mm estatisticamente, não apresentando diferenças entre si.

Visando determinar e comparar a composição do MTA branco e cinza, Asgary et al. (2005) verificaram as diferenças químicas entre os materiais. Diversas cavidades de 3mm de profundidade em discos de resina foram preenchidas com MTA branco e cinza manipulados e os conjuntos mantidos em incubação com 100% de umidade por 48 h. Todos os espécimes foram examinados diversas vezes sob MEV equipado com uma sonda de elétrons. Foi observado que o MTA cinza possui 122% mais carborundum ( $Al_2O_3$ ), 130% mais periclase (MgO) e, especialmente, mais de 1000% de FeO, o que os autores acreditam dar a cor cinza ao material. Foi notado uma superfície mais regular, uniforme e lisa no MTA branco, com a fase cristalina mais linear.

Na tentativa de traçar um paralelo entre microinfiltração e adaptação marginal de materiais retrobturadores, além de analisar suas capacidades seladoras, Xavier et al. (2005) avaliaram 30 raízes ( $n = 10$ ) processadas até o retropreparo. Os grupos foram divididos de acordo com o material: MTA Ângelus, Super-EBA e Vitremer. Após a inserção dos materiais manipulados, incubação e impermeabilização, as raízes foram coradas com Nitrato de Prata a 50% por 1 h. Tiras transversais de 1 mm foram cortadas e observadas em aumento de X30, onde a infiltração era registrada através de *scores*. As tiras foram processadas e observadas em MEV onde foi confirmada a penetração do corante e mensurou-se a distância entre os materiais e a cavidade em 4 pontos. O MTA mostrou-se significativamente ( $p < 0,01$ ) o material com melhor adaptação marginal, porém ficou abaixo do Super-EBA ( $p > 0,05$ ) quanto a microinfiltração. O teste de correlação linear de Pearson ( $p < 0,05$ ) não demonstrou correlação entre microinfiltração e adaptação marginal neste estudo.

Mohammadi, Modaresi e Yazdizadeh (2006) avaliaram *in vitro* os efeitos antifúngicos do MTA branco e cinza. Os materiais foram testados de duas maneiras: recém manipulados (frescos) ou após 24 h de presa, todos colocados em microplacas de 24 poços ( $n = 10$ ). *C. albicans* foram semeadas *overnight* e misturadas aos materiais de acordo com os grupos experimentais. Durante a incubação de 1 h, 24 h e 72 h, alíquotas de 0,1 mL eram retiradas e semeadas em Sabouraud *infusion broth*, sendo monitoradas e quantificadas por mais 7 dias. O teste estatístico revelou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre o MTA branco e cinza e nem entre o material fresco e o de 24 h, sendo os dois materiais efetivos contra o fungo após 24 h.

## 2.4 Lasers de alta potência na endodontia e cirurgia apical

Diversas propostas foram cogitadas para o uso de lasers de alta potência em endodontia: preparo de canais com fusão ou corte de dentina; descontaminação intra e extra radicular; desobturação; apicectomia e tratamento de superfícies dentinárias apicais ressectadas entre outras. Diversos trabalhos demonstraram e comprovaram a capacidade antimicrobiana dos lasers de alta potência, justificando seu uso, sempre que possível, em situações de infecção refratária. Mas poucos estudos procuraram verificar os efeitos dessas interações na microinfiltração retrógrada. Após a apicectomia, o laser de alta potência poderia ser aplicado em toda superfície ressectada e retrocavidade, buscando-se um efeito de derretimento e ressolidificação dentinária, alterando-se sua ultra-estrutura. Esse efeito poderia dificultar ou impedir a microinfiltração na região, assim como alterar a adaptação e possivelmente o selamento dos materiais retrobturadores as paredes da retrocavidade

Em dois estudos que se completam, Stabholz et al. (1992a, 1992b) foram os pioneiros em verificar a ação do laser de Nd:YAG em superfícies ressectadas, retrocavidades e no selamento retrógrado. Sessenta dentes unirradiculares (n = 10) foram divididos aos pares (experimental e controle) em 3 grupos de acordo com a técnica e retropreparo: par A e B foram preparados e limpos até #35, obturados, apicectomizados com brocas em alta rotação e receberam retrocavidades com brocas em baixa rotação. No par C e D as raízes foram preparadas como descrito no primeiro par, exceto pela não realização de uma

retrocavidade, e nos pares E e F as raízes não foram preparadas, mas foram apicectomizadas e retropreparadas como em A e B. Todas as superfícies apicais e retropreparos foram irradiados com 3 W, 20 Hz e 150 mJ no primeiro estágio (sem refrigeração) e 1,9 W, 20 Hz e 95 mJ no segundo (com refrigeração a água). As retrobturações foram realizadas com amálgama. Todas as raízes foram impermeabilizadas e permaneceram imersas em azul de metileno a 0,5% por 48 h. Posteriormente foram avaliadas em microscópio óptico e scores de avaliadores atribuídos. O valor de penetração de corante nos grupos irradiados foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que nos grupos controle. Na seqüência do estudo, alguns espécimes foram preparados e observados em MEV revelando: fusão e derretimento dentinário; formação de “gotas” e globulações dentinárias; uma incompleta e descontínua resolidificação e recristalização dentinária, apresentando regiões aparentemente livres do efeito do laser.

Num estudo clássico, Moritz et al. (1997) procuraram verificar a ação antimicrobiana intracanal, a mudança de temperatura na superfície radicular e a penetração de corante na dentina radicular irradiada com laser Diodo de alta potência (810 nm). Na avaliação bactericida, 44 canais foram preparados até #50 e esterilizados. Dois tipos de bactérias foram inoculadas intracanal por 48 h a 37°C. O laser foi aplicado nos parâmetros de 2, 3 e 4 W e taxas de pulsos de 0,01 e 0,02. Outras raízes, preparadas até #50, receberam irradiações de diversas potências e parâmetros intracanal, sendo a temperatura da superfície radicular controlada por espectroscópio infravermelho. Canais preparados cuja camada de magma dentinário não havia sido removida foram irradiados com 2, 3 e 4 W e armazenados em fucsina a 1% por 1 hora. Cinco dos 44 canais apresentaram

novo crescimento bacteriano após 28 dias de incubação em caldo de cultura, sendo 4 desses de grupos de taxa de pulso 0,02. A temperatura média da superfície apical permaneceu em torno de 6°C durante as irradiações. A penetração de corante foi muito diminuída nas potências de 2 e 3 W e nula aos 4 W, comprovando, em MEV, a obliteração e diminuição da permeabilidade dentinária. Curiosamente, os autores afirmam que quando alguns canais foram irrigados previamente com EDTA, removendo-se o magma dentinário, o efeito de obliteração e diminuição da permeabilidade não funcionou. O laser de Diodo 810nm pode ser diretamente comparado ao laser de Nd:YAG segundo os autores, apresentando propriedades similares.

Liu, Lin e Lan (1997) avaliaram o selamento superficial de túbulos dentinários humanos cervicais causado pela irradiação de Nd:YAG. Trinta e seis blocos de dentina (n = 12) foram divididos em 3 grupos sendo: controle, grupo A e grupo B, os quais foram irradiados com 30 mJ e 10 pulsos/seg. Logo após, os blocos do grupo B foram congelados em nitrogênio líquido e cortados transversalmente. Todos os espécimes foram observados e fotografados em MEV e observou-se fusão e obliteração das entradas de túbulos dentinários em todos os espécimes dos grupos teste, sendo 4 µm a profundidade média de selamento.

Camargo et al. (1999) verificaram a permeabilidade de retrobturações após diversos tipos de apicectomia e tratamento da superfície ressectada. Sessenta e dois dentes foram preparados até #60, limpos com hipoclorito e EDTA e divididos em 4 grupos de acordo com o tipo de apicectomia e tratamento apical: G1, apicectomia com brocas diamantadas em alta rotação e preparo da retrocavidade

com brocas em baixa rotação; G2, apicectomia com brocas em alta rotação, preparo da retrocavidade em baixa rotação e irradiação com Nd:YAG (1 W, 15 Hz, 30 seg) em toda superfície ressectada e retrocavidade; G3, apicectomia com laser Er:YAG (400 mJ, 6 HZ, sob refrigeração) e preparo da retrocavidade em baixa rotação e G4 da mesma maneira que G3, porém, ao final, era aplicado o laser Nd:YAG da mesma maneira que G2. Todos os espécimes foram retrobturados com Super-EBA, tiveram as raízes impermeabilizadas e permaneceram em azul de metileno a 1% por 12 h. Posteriormente foram lavados, seccionados e observados em microscópio óptico. Ambos os grupos tratados com Nd:YAG apresentaram os menores valores de microinfiltração, sendo o G4 significativo ( $p < 0,05$ ) perante os outros grupos.

Os efeitos do laser érbio cromo nas paredes dentinárias intracanal foram avaliados por Yamazaki et al. (2001). Sessenta raízes unirradiculares foram preparadas até #80, limpas com hipoclorito a 5,25% e EDTA a 14% e divididas em 2 grupos, contendo 6 subgrupos ( $n = 5$ ), de acordo com o modo de irradiação: grupo 1 de 1 a 6 W sem refrigeração a água (modo pulsado, 20 Hz) e grupo 2 as mesmas potências com refrigeração de água e ar. A temperatura da superfície radicular também foi registrada durante a irradiação por infravermelho. Todas as raízes foram seccionadas e observadas em MEV. No grupo 1, todos os espécimes apresentaram carbonização e *cracks*, sendo bem discretos a 1 W e severos a 6 W. No grupo 2, somente a partir de 5 W, foram observados *cracks* e carbonizações, porém, todos os espécimes apresentaram abertura de túbulos e ausência de magma dentinário. A temperatura permaneceu a 8°C em média.

Procurando verificar o nível de selamento apical obtido após a irradiação com laser Er,Cr:YSGG intracanal, Yu et al. (2004) prepararam endodonticamente 105 raízes e as dividiram em 7 grupos (n = 15) de acordo com o modo de irradiação. Todos os espécimes foram irradiados e submetidos à microinfiltração com corante. Após análise estatística, foi demonstrado que o parâmetro de 1 W sem refrigeração proporcionou significativamente ( $p < 0,01$ ) o melhor selamento apical, sendo indicado para redução da permeabilidade dentinária.

Oliveira et al. (2004) estudaram os efeitos de lasers de alta potência sobre o selamento retrógrado. Três grupos (n = 8), de raízes preparadas e limpas, foram divididos de acordo com o método de apicectomia e tratamento da superfície apical com lasers: Grupo I, apicectomia com Er:YAG (350 mJ, 4 Hz, 28,2 J/cm<sup>2</sup>), tratamento da superfície (129 mJ, 4 Hz, 69,1 J/cm<sup>2</sup>) e preparo da retrocavidade (350 mJ, 4 Hz, 201,5 J/cm<sup>2</sup>); Grupo II, apicectomia similar ao grupo I, tratamento da superfície e confecção da retrocavidade com Nd:YAG (100 mJ, 15 Hz, 1,5 W) e grupo III todos os preparos realizados com brocas em alta rotação. Logo após os espécimes foram impermeabilizados, imersos em azul de metileno 0,5 % por 48 h, lavados, cortados e observados em MEV e microscopia óptica. O grupo II apresentou estatisticamente a menor penetração de corante quando comparado aos outros grupos. A análise em MEV revelou obliteração de túbulos no grupo II e abertura de túbulos no grupo I.

A capacidade bactericida de diversos lasers de alta potência através das camadas profundas da dentina foi avaliada por Schoop et al. (2004). No total, 360 (n = 20) discos de dentina de 2 x 6 mm foram obtidos, esterilizados, armazenados e posteriormente inoculados, em um lado somente, com *E. coli* e *E. faecalis*. Os

lasers de Nd:YAG, Diodo 810 nm, Er:YAG e Er,Cr:YSGG foram utilizados em duas potências, 1 e 1,5 W, e os outros parâmetros ajustados visando-se uma padronização. Os lasers foram irradiados 5 vezes no modo contato, no lado não inoculado. Todos os lasers foram capazes de reduzir significativamente a quantidade de ambas as bactérias na regulação de 1,5 W quando comparado ao controle.

O objetivo do estudo de Souza, Amorim e Lage-Marques (2006) foi verificar se a irradiação de laser de Diodo 810 nm poderia aumentar o selamento apical em cavidades retrógradas obturadas com MTA. Vinte raízes ( $n = 10$ ) foram preparadas e obturadas. Os ápices foram cortados e retropreparados com brocas diamantadas em alta rotação. O grupo 1 foi retrobturado com MTA e o grupo 2 sofreu irradiação (1 W, 20 s) na superfície apical e na retrocavidade antes da obturação com MTA. Os espécimes foram impermeabilizados, imersos em corante rodamina B a 1% por 72 h e seccionados. A leitura da infiltração linear do corante foi realizada com microscopia óptica. Não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos ( $p > 0,05$ ), evidenciando que a irradiação com Diodo não proporcionou aumento do selamento retrógrado.

Recentemente, Wallace (2006) utilizou o laser de érbio cromo para realizar retrocavidades e verificar a formação ou não de *cracks* ou estilhaços dentinários. Trinta e seis ápices, de dentes não preparados, foram ressectados com broca carbide em alta rotação e as superfícies fotografadas e imersas em azul de metileno a 0,004% por 48 h. Todas as raízes foram novamente fotografadas e as retrocavidades, de 3 mm de profundidade, preparadas com o *Waterlase* (Biolase - Er,Cr:YSGG) nos parâmetros sugeridos pelo fabricante: 4 W, fibra de 600  $\mu\text{m}$  e

refrigeração água/ar. Novamente os ápices foram corados, fotografados e todas as fotos avaliadas. Somente um ápice apresentou um *crack* questionável e o uso deste laser foi, segundo o autor, indicado para confecção de retrocavidades lisas e uniformes.

A permeabilidade marginal dentinária após irradiação das retrocavidades com laser de Er;Cr:YSGG e retrobturação com MTA ou cianoacrilato, e a penetrabilidade dentinária desses materiais foram avaliadas por Winik et al. (2006). Vinte e dois dentes unirradiculares foram tratados endodonticamente, apicectomizados com broca de fissura, retropreparados em baixa rotação e divididos em 2 controles e 4 grupos (n = 5): GI e GII - retrobturação com MTA e cianoacrilato, respectivamente; GIII e GIV - retrocavidades irradiadas com laser de Er;Cr:YSGG (2,78  $\mu\text{m}$ , 4 W, 20 Hz, 70,8 J/cm<sup>2</sup>) e retrobturação com MTA e cianoacrilato, respectivamente. Depois de impermeabilizados, imersos em rodamina B a 1% por 24 h e observados em microscopia óptica e MEV, os resultados demonstraram que os espécimes irradiados com laser e retrobturados com MTA apresentaram níveis de permeabilidade significativamente maiores (p<0,05). A análise das micrografias revelou maior penetração tubular do cianoacrilato quando comparado ao MTA.

Em uma completa análise sobre os efeitos do laser de érbio cromo sobre a dentina coronária, Ekworapoj, Sidhu, McCabe (2007) avaliaram os efeitos de diferentes potências na microdureza e ablação desse tecido mineralizado. Diversos discos de dentina foram obtidos e irradiados sob 4 potências: 3 W (33,9 J/cm<sup>2</sup>), 3,5 W (39,6 J/cm<sup>2</sup>), 4 W (45,2 J/cm<sup>2</sup>) e 4,5 W (50,9 J/cm<sup>2</sup>). A microdureza foi avaliada com um aparelho de teste de Martens e todos os discos avaliados em

MEV. Os autores observaram que a média de eficiência de ablação foi aumentada de acordo com o aumento da potência e que a microdureza foi significativamente ( $p < 0,05$ ) reduzida, alterando a microestrutura dentinária. A limpeza e exposição de túbulos também foram crescentes seguindo o aumento da potência.

## **2.5 Estudo da microinfiltração *in vitro***

Vivemos atualmente uma grande explosão de informação e ciência, que possibilitou um grande avanço nas áreas Médica e Odontológica. Com o advento de novas metodologias, muito mais precisas e próximas da realidade biológica, os “velhos” modelos de estudo começaram a ser colocados em questionamento, e seus resultados estão sendo repensados em novos métodos de avaliação científica. A infiltração dentária, em todas as suas esferas, é tema constante de estudos em diversas especialidades Odontológicas. Durante as décadas de 70 e 80, uma gigantesca quantidade de trabalhos estudou a microinfiltração nas diversas etapas da endodontia, sendo o principal meio de avaliação a infiltração de corantes. Infelizmente, esta época apresentou pouca evolução no método avaliativo, gerando dados incertos e conclusões duvidosas, nem sempre embasadas em averiguações mais completas. Nos dias atuais, ainda encontramos influência deste período, porém, as metodologias passaram por uma renovação, e se encontram mais próximas da realidade clínica e microbiológica.

Um importante estudo de Kersten e Moorer (1989) abriu diversas

possibilidades e questionamentos em estudos de microinfiltração. O estudo, que avaliou 4 tipos de técnicas obturadoras, foi pioneiro no uso de esferas de látex, ácido butílico e endotoxina como marcadores, demonstrando uma avaliação quantitativa da microinfiltração. Outros interessantes avanços para a época foram: o uso de pressão positiva para forçar a microinfiltração e a permanência prolongada dos espécimes nos marcadores. Os autores concluem que substâncias de baixo peso molecular, como corantes, produzem resultados duvidosos *in vitro* e provavelmente não são decisivas no desenvolvimento de doença apical, porém, substâncias antigênicas de alto peso molecular e bactérias seriam um importante fator.

Pashley (1990) teceu diversas considerações clínicas acerca da microinfiltração dentinária. Dentre os principais tópicos, foi abordada a permeabilidade dentinária (incluindo fatores como localização de túbulos e magma dentinário) e a microinfiltração (mensuração e visualização). Especificamente sobre a permeabilidade dentinária, o autor propôs que esta é diretamente proporcional ao número de túbulos e superfície dentinária exposta, contribuindo para uma maior chance de microinfiltração, e inversamente proporcional a sua espessura. Sobre a veracidade dos estudos laboratoriais, o autor coloca que existe uma pobre correlação entre estudos de microinfiltração *in vitro* e o sucesso clínico dos materiais utilizados, mas estes estudos podem servir como indicadores de previsibilidade de sucesso *in vivo*.

Em uma revisão polêmica e decisiva da literatura acerca dos estudos sobre microinfiltração endodôntica, Wu e Wesselink (1993) discorreram diversos tópicos fundamentais para uma nova posição frente a estudos que utilizavam corantes ou

radioisótopos como marcadores de infiltração *in vitro*. Uma tabela foi apresentada demonstrando significativa diferença entre resultados de metodologias similares e grupos controle do mesmo tipo, colocando em xeque a veracidade dos estudos. A necessidade de estudos quantitativos, em contrapartida a imensa maioria de resultados semi-quantitativos, foi ressaltada. Quando do uso de corante, a frágil padronização dos tempos de imersão, ausência de dados essenciais, como pH por exemplo, e a variação na secção dos dentes, resulta em estudos duvidosos. Outro fator relevante foi a ausência de relação entre *GAP* e volume de corante penetrado. Os autores sugerem que as futuras pesquisas devam apresentar metodologias quantitativas, bem descritas, com espécimes padronizados e reproduzíveis. Do mesmo modo, propõem que a verdadeira relação quantitativa entre a microinfiltração de produtos bacterianos e a inflamação periapical seja avaliada.

Procurando correlacionar a infiltração de corante ou bactéria, Barthel et al. (1999) testaram ambos meios de avaliação em canais obturados com diversos cimentos obturadores. Ao final de 38 dias em câmaras de microinfiltração bacteriana e 48 h em fucsina básica, os autores não encontraram resultados que pudessem correlacionar a infiltração de corante com a percolação bacteriana, concluindo que o tamanho da molécula do agente infiltrador não parece ser o parâmetro relevante, quando se procura determinar um teste apropriado para avaliar o selamento de canais radiculares.

Procurando correlacionar os resultados de três métodos de verificação da microinfiltração em obturações endodônticas, Camps e Pashley (2003) avaliaram o uso de filtragem de fluido, penetração de corante e extração e quantificação de

corante. Quarenta dentes foram preparados e obturados com 4 tipos de cimento obturador. Uma parte dos espécimes foi submetida à filtragem de fluido como controle e a outra teve o ápice imerso em azul de metileno neutro a 2% por 24 h. Logo após as raízes foram seccionadas longitudinalmente e a microinfiltração linear avaliada. As mesmas raízes foram dissolvidas em ácido nítrico e a quantidade de corante medida em espectrofotômetro. Houve uma correlação estatística entre o controle e a extração de corante, que produziram os mesmos resultados, diferente da penetração de corante, que gerou resultados diferentes e controversos.

Tanomaru Filho, Figueiredo, Tanomaru (2005) analisaram a influência do azul de metileno (AM) e rodamina B (RB) na avaliação da microinfiltração retrógrada de MTA. Cinquenta e seis raízes foram preparadas, obturadas, apicectomizadas com broca carbide em baixa rotação e as retrocavidades preparadas com ultra-som. Quatro grupos (n = 13) foram divididos de acordo com os materiais retrobturadores e corantes: grupo 1, MTA + AM 2% por 48 h; grupo 2, MTA + RB 0,2% por 48 h; grupo 3, OZE + AM 2% por 48 h e grupo 4, OZE + RB 0,2% por 48 h. A imersão nos corantes se deu a vácuo. As raízes foram lavadas, seccionadas longitudinalmente e a microinfiltração analisada. Os resultados revelaram que o grupo 1 apresentou significativamente ( $p < 0,05$ ) menor microinfiltração. Os autores concluem que a avaliação foi influenciada pela solução corante, de modo que o MTA apresentou melhores resultados no grupo 1 perante o grupo 2.

Seguindo a mesma linha de pesquisa, Vogt et al. (2006) avaliaram a penetração de três corantes em retrocavidades obturadas com MTA. Trinta raízes

foram preparadas, apicectomizadas com disco diamantado e retrocavidades de 3 mm confeccionadas com ultra-som. Os espécimes foram retrobturados com MTA, divididos em três grupos (n = 10) e imersos nos seguintes corantes: azul de metileno neutro a 2% por 24 h, nitrato de prata a 50% por 2 h e rodamina B a 0,2% por 24 h. Duas fatias transversais de 1 mm da região retrobturada foram obtidas e avaliadas em microscopia óptica. A menor área de penetração foi observada no grupo do nitrato, nas duas fatias ( $p < 0.05$ ). Os autores concluíram que a escolha da solução corante pode influenciar a avaliação da penetração em estudos sobre retrobturações e que o nitrato de prata, mesmo sendo a menor molécula em questão, mostrou pouca capacidade de penetração na dentina apical.

Paralelamente aos estudos mencionados, durante as mesmas décadas, outros estudos já visavam novas possibilidades para a avaliação da microinfiltração, na busca de resultados mais confiáveis. O modelo de microinfiltração bacteriana foi desenvolvido e continuou sendo constantemente melhorado até os dias atuais.

Buscando melhorar a metodologia de microinfiltração bacteriana na época, Kos, Aulozzi e Gerstein (1982) propuseram algumas mudanças importantes na avaliação de três materiais retrobturadores. Cento e vinte raízes foram preparadas e limpas, porém não obturadas. Todas foram apicectomizadas e receberam retrocavidades de 2 mm com brocas de aço em baixa rotação. Os materiais testados foram guta-percha aquecida, guta-percha fria, amálgama livre de zinco e poly-HEMA (n = 20). Um anteparo foi criado intracanal para a acomodação dos materiais e as raízes colocadas em tubos, formando um aparato único de câmaras superior e inferior. Dois tipos bacterianos (*S. salivarius* e *Proteus vulgaris*) foram

inoculados na câmara superior, e o tempo de avaliação foi de 7 e 38 dias. Nenhum espécime do grupo poly-Hema infiltrou, enquanto grande parte dos outros grupos alterou a cor da câmara inferior, devido à mudança de pH proveniente da presença das bactérias. Os importantes avanços foram: a manipulação e presa do poly-HEMA ter sido realizada sob ambiente úmido e a colocação dos meios de cultura com finas agulhas, prevenindo a formação de bolhas de ar.

Após terem demonstrado a microinfiltração de diversos materiais retrobturadores com corantes, Torabinejad et al. (1995c) aperfeiçoaram o modelo de Kos e avaliaram a microinfiltração de *S. epidermidis*. Cinquenta e seis raízes foram preparadas da mesma maneira descrita por Kos, Aulozzi e Gerstein (1982), porém, desta vez, a retrocavidade tinha 3 mm, a câmara pulpar (superior) estava fora de contato com todo o aparato da câmara inferior, e os materiais usados foram: IRM, amálgama, Super-EBA e MTA (n = 10). O inóculo superior era renovado todo dia e a avaliação se deu por 90 dias. O MTA demonstrou significativamente ( $p < 0,05$ ) menos microinfiltração bacteriana perante os outros grupos. Os autores atribuíram este fato a natureza hidrofílica e pequena expansão do MTA após a presa em ambiente úmido, e não a modesta capacidade antimicrobiana do material.

Fisher, Arens e Miller (1998) seguiram de perto a metodologia de avaliação da microinfiltração bacteriana de Torabinejab et al. (1995c) e praticamente o repetiram, salvo algumas mudanças. Neste estudo, as retrocavidades foram realizadas com pontas de ultra-som, a bactéria utilizada foi *Serratia marcescens*, o inóculo renovado duas vezes por semana e o tempo de avaliação de 120 dias. Novamente o MTA (n = 10) comprovou significativamente ( $p < 0,05$ ) sua eficácia,

apresentando infiltração somente após 49 dias.

Adamo et al. (1999) verificaram que MTA, Super-Eba, resina composta, amálgama e amálgama adesivo (n = 10) apresentaram o mesmo padrão de microinfiltração ao longo de 84 dias. As diferenças metodológicas entre os estudos foram: a utilização de broca carbide em alta rotação para a apicectomia, a bactéria utilizada (*S. salivarius*), uma melhor vedação e isolamento das câmaras com diversas camadas de cianoacrilato e esmalte de unha, os tipos de caldo utilizados e a renovação do inóculo a cada dois dias. Novamente as raízes não foram obturadas (eliminar outros fatores) e as retrocavidades realizadas com ultra-som. O tempo médio de microinfiltração para todos os grupos foi de 35 dias. Os autores discutiram diversas limitações acerca do modelo de microinfiltração bacteriana, como o uso de poucas espécies de microorganismos, a falta de presença de fluídos orgânicos no inóculo, a falta de quantificação de bactérias, as alterações estruturais em dentes extraídos e o curto período de avaliação.

Scheerer, Steiman e Cohen (2001) seguiram os modelos anteriores e avaliaram a microinfiltração de *P. nigrescens* frente à retrobturações de MTA, Super-EBA e Geristone (BIS-GMA hidrofílico) durante 47 dias (n = 23). A diferença na metodologia foi utilizar uma bactéria anaeróbica e a apicectomia, que foi realizada a 45°. O inóculo era renovado duas vezes por semana. Somente um espécime de Super-EBA infiltrou durante todo o estudo, o que demonstrou a semelhança dos materiais frente à microinfiltração bacteriana. Os autores colocam seus resultados como contrários a grande maioria, já que praticamente não houve infiltração. Isso, hipoteticamente, pode ser explicado pelo tamanho da bactéria usada (*P. nigrescens* é seis vezes maior que *Serratia marcescens* e *S. salivarius*)

ou contaminação externa.

Siqueira Jr. et al. (2001) conduziram um estudo que avaliou, por 60 dias, a microinfiltração de saliva (como inóculo) perante IRM, Sealer 26 e Fuji IX, quando utilizados como materiais retrobturadores (n = 20). Os autores mudaram também o sistema de câmaras, utilizando vidro, borracha, pedaços de seringas e cianoacrilato como meio de vedação. Um rígido controle da esterilização foi seguido e os inóculos eram renovados a cada 3 dias. O Sealer 26 apresentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o melhor selamento e não houve diferença entre os outros grupos. Todos os grupos apresentaram, no mínimo, 65% de microinfiltração em seus espécimes.

Novamente melhorando a metodologia de microinfiltração bacteriana, Mangin et al. (2003) mensuraram quantitativamente a penetração de *E. faecalis* em retrobturações de MTA, Super-EBA e cimento de hidroxiapatita. Para tal, utilizaram 30 raízes preparadas (n = 10), apicectomizadas com broca carbide em alta rotação e retropreparadas com ultra-som. O sistema de câmaras foi montado, esterilizado e as retrobturações realizadas sobre um anteparo de guta-percha, que era removido posteriormente. O inóculo bacteriano foi realizado adicionando-se partículas radioativas, de modo que, ao longo de diversos períodos de tempo até 24 dias, essa atividade radioativa podia ser recuperada da câmara inferior e quantificada. Com uma titulação inicial padrão que correlacionava a radioatividade com a quantidade de CFU's, o número exato de bactérias podia ser obtido. Todos os grupos apresentaram microinfiltração e não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos avaliados em nenhum período de tempo. Os autores ressaltam que a metodologia de microinfiltração bacteriana é clinicamente mais

relevante que outras propostas *in vitro*.

Recentemente, Maltezos et al. (2006) verificaram a capacidade seladora do MTA, Super-EBA e Resilon/Epiphany, frente a *S. salivarius*, quando usados como materiais retrobturadores *in vitro*. Seguindo a técnica atual de retropreparo e a mesma metodologia de mudança de cor da câmara inferior, descrita em estudos prévios, os grupos (n = 15) foram montados e a avaliação se deu por 30 dias, sendo o inóculo renovado duas vezes por semana. Todos os grupos apresentaram microinfiltração, e o MTA e Resilon apresentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) melhor capacidade de selamento retrógrado.

Um único artigo encontrado, tratando da microinfiltração fúngica em obturações endodônticas, é atribuído a Miletic et al. (2002), que avaliaram a microinfiltração bacteriana e fúngica em obturações realizadas com AH26 e AH Plus (n = 20). Os canais foram preparados, limpos e obturados com condensação lateral. O sistema de câmaras foi montado e esterilizado. Foram utilizadas *Candida albicans* em metade dos grupos e 4 tipos de bactérias misturadas (*S. mutans*, *S. mitis*, *P. melaninogenica* e *Lactobacillus acidophilus*) na outra parte. A observação se deu por 90 dias e o inóculo era renovado a cada semana. Todos os grupos apresentaram microinfiltração, não havendo diferença estatística entre eles. O padrão de microinfiltração de fungos e bactérias foi equivalente na metodologia proposta pelos autores.

### 3 PROPOSIÇÃO

Mediante o exposto, o presente estudo buscou verificar em situações clínicas simuladas *in vitro*, a microinfiltração, durante 60 dias, de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, em raízes endodonticamente tratadas, retropreparadas e retrobturadas com MTA branco, após irradiação da retrocavidade e superfície apical ressectada valendo-se dos lasers de alta potência Nd:YAG, Diodo 810nm e Er,Cr:YSSG.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

- 70 Dentes humanos unirradiculares, extraídos por razões diversas, fornecidos pelo Banco de Dentes Humanos da FOU SP;
- Filmes, reveladores e fixadores radiográficos (Kodak – Brasil);
- Cureta periodontal universal (Hu-friedy Corp. – USA);
- Discos de Carborundum e mandril para peça reta (Dedeco Corp. – USA);
- Autoclave Vertical MOD 103 (FABBE - Brasil) e Água destilada (ICB – USP);
- Estufa para esterilização (Olidex CZ Ind. e Com. – Brasil);
- Canetas de alta e baixa rotação refrigerado (Dabi Atlante – Brasil);
- Pinça Clínica (Duflex – Rio de Janeiro – Brasil);
- Limas tipo K, 1ª e 2ª série (Maillefer – Suíça);
- Cursores de silicone (Maillefer – Suíça);
- Solução de Hipoclorito de Sódio 1% e EDTA-T 17% (Fórmula e Ação – Brasil);
- Creme de Endo-PTC (Fórmula e Ação – Brasil);
- Intermediário para aspiração, cânulas de aspiração 40:20, e agulhas de irrigação 40:10 (SSWhite – Rio de Janeiro – Brasil);
- Seringas descartáveis de 10mL (BD Industrias Cirúrgicas Ltda. – Brasil);
- Cuba ultrassônica (Sanders Madical – Brasil);

- Cones de guta-percha FM (Dentsply – Brasil);
- Régua calibradora de cones (Maillefer – Suíça);
- Cones de papel absorvente estéreis vários tamanhos (Dentsply – Brasil);
- Espátula número 24 flexível e placa de vidro polida (SS White – Rio de Janeiro – Brasil);
- Espaçadores digitais A-D (Maillefer – Suíça);
- Cimento obturador AH Plus® (Dentsply – USA);
- Álcool, lamparina e isqueiro (São Paulo – Brasil);
- Calcadores tipo Paiva números 1 a 4 (Duflex – Rio de Janeiro – Brasil);
- Éster Cianoacrilato de Etila – Super Bonder® (Loctite – Brasil);
- Resina epóxica – Araldite® Profissional 24hs (Brascola Ltda. – Brasil);
- Silicone para Impressão Pesada Perfil® (Vigodent – Brasil);
- Soro fisiológico e algodão estéril (BD Industrias Cirúrgicas Ltda. – Brasil);
- Dispositivo de simulação de dificuldades operatórias (vide métodos);
- Régua transparente, lápis e cera utilidade (São Paulo – Brasil);
- Broca tipo Carbide #700XXL. (Maillefer – Suíça);
- Broca Diamantada tronco-cônica FF (Metalúrgica Fava – Brasil);
- Aparelho de Ultra-som Mini-Endo® (EIE Analytic – USA), com pontas MiniPiezon® (EMS – Espanha) reta e para retropreparo;
- Aparelho de laser Nd:YAG (ADT - EUA) e ponta específica;
- Aparelho de laser Diodo ZAP® (Zap Laser – EUA) e ponta específica;
- Aparelho de laser Biolase® (Er:YSGG) (Biolase Tech Inc. – USA);
- Cimento MTA Angelus® Branco (Ângelus – Brasil);

- Luvas cirúrgicas estéreis (Madeitex Ind. e Com. de Art. Látex Ltda. – Brasil);
- Campos de TNT estéreis (São Paulo – Brasil);
- Esmalte de unha (Impala – São Paulo – Brasil);
- Filme de PVC (Equipak – Porto Alegre – Brasil);
- Tubos de polipropileno tipo eppendorf MCT-200C (Axygen – USA);
- Pacotes de polipropileno para esterilização (Medstéril – São Paulo – Brasil);
- Recipientes de vidro (tubo de penicilina) (São Paulo – Brasil);
- Câmara de Fluxo Laminar (Callmex – Brasil);
- Agitador Vortex Genie Z® (Scientific Ind. – USA);
- Ponteiras para micropipetas de 1µl a 200µl T-200Y (Axygen – USA);
- Ponteiras para micropipetas de 1000µl T-1000B (Axygen – USA);
- Micropipetas Pipetman® P1000µl, P200µl, P40µl, P10µl (Gilson – França);
- Tryptic Soy Broth (TSB)(Difco – USA);
- Tryptic Soy Agar (TSA) (Difco – USA);
- Ethyl Violet Azide (EVA Broth)(Difco – USA);
- Sabouraud Dextrose Agar (Difco – USA);
- Cloranfeinicol (Difco – USA);
- *Enterococcus faecalis* ATCC29212 (Oxoid – Brasil);
- *Candida albicans* ATCC 10231 (Oxoid – Brasil);
- Placas de cultivo estéreis (JProlab – São Paulo – Brasil);
- Lâminas de vidro para microscopia (JProlab – São Paulo – Brasil);
- Microscópio óptico e óleo de imersão (Nikon – Tokyo – Japão);

## 4.2 Métodos

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-FOUSP) sob o número 66/07 (anexo A). Foram selecionados, ao exame radiográfico, 70 dentes humanos unirradiculares fornecidos pelo Banco de Dentes Humanos da FOUSP, extraídos por motivos diversos. Os dentes com mais de um conduto, com cáries de raiz, grandes destruições ou calcificados foram excluídos do trabalho. Todos os dentes foram desinfetados, lavados em água corrente, submetidos à remoção de biofilmes remanescentes por meio de ultra-som e raspagem, e armazenados em potes contendo soro fisiológico estéril, permanecendo por período mínimo de 72 horas em estufa a 37° C.

A seguir, o comprimento dos dentes foi padronizado em 17mm com disco de carborundum montado em mandril e peça reta sob constante refrigeração. Em cada dente o comprimento real de trabalho foi estabelecido, averiguando-se a coincidência da ponta da lima 15 com o forame. Após ajustar o cursor de silicone, o instrumento era medido e deste comprimento foi subtraído 1 mm, para determinação do CRT. O primeiro instrumento selecionado era aquele que melhor se adaptava ao canal no CRT. Os canais foram preparados seqüencialmente até o calibre #40 com limas tipo K, em presença de Endo-PTC e solução de hipoclorito de sódio a 1% com constantes renovações (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991). Ao final da instrumentação, todos os espécimes receberam irrigação intracanal com 10mL de EDTA-T 17% e 10mL de hipoclorito de sódio a 1% e 2 banhos de 5min, imersos nas respectivas soluções químicas, em cuba ultra-sônica. Após 48 h em

solução fisiológica esterilizada, todas as raízes foram autoclavadas a 121°C por 15 min. Posteriormente, os canais foram secos com sugadores de fino calibre e cones de papel esterilizados. O cone de guta-percha principal era calibrado e travado ao canal no CRT. Todos os espécimes foram obturados pela técnica de condensação lateral e vertical a frio, utilizando-se o cimento obturador AH Plus®, preparado de acordo com as instruções do fabricante. O cone principal era envolto por cimento obturador e, com este, as paredes do canal eram pinceladas e o cone travado. O mesmo se procedeu com os cones secundários, utilizando-se de espaçadores digitais para a condensação lateral. Terminada a obturação dos espécimes, o material excedente era removido com calcadores Paiva ao rubro na altura da entrada cervical do canal e a condensação vertical a frio realizada com os mesmos. Todos os espécimes permaneceram armazenados por 48 horas em local úmido a 37°C.

Visando recriar as condições peculiares à cirurgia retrógrada, onde acesso limitado e umidade estão praticamente sempre presentes, as raízes eram inseridas em um dispositivo para realização de procedimentos apicais (Figura 4.1). Trata-se de um tubo plástico preenchido com resina autopolimerizável, sendo reservado um espaço para a instalação do elemento dental. Uma loja cirúrgica simulada, de 1 cm de diâmetro por 1 cm de profundidade, foi preparada e forrada com algodão embebido em soro fisiológico estéril. As raízes eram inseridas uma a uma no dispositivo e apoiadas por cera utilidade durante a apicectomia, retropreparo, irradiação e preenchimento retrógrado respectivamente. Um recuo de 3 mm desde o ápice anatômico foi demarcado com grafite na superfície externa da raiz.

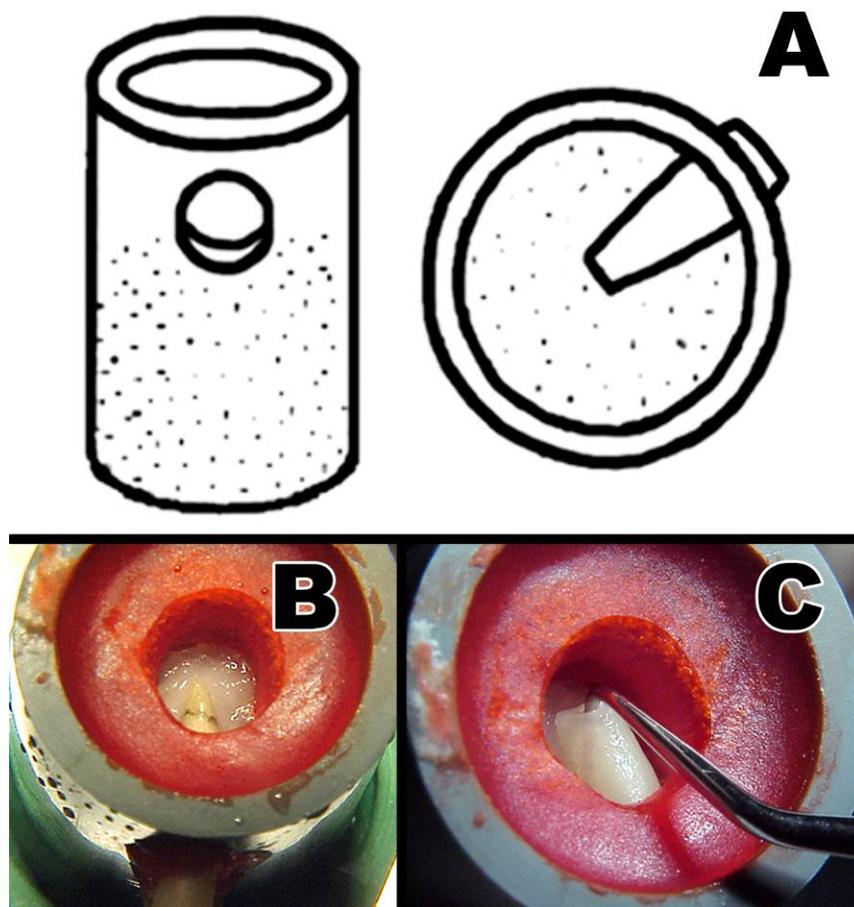


Figura 4.1 – (A) Esquema ilustrativo do dispositivo de simulação de dificuldades operatórias. (B) Raiz inserida no dispositivo com terço apical demarcado. (C) Retropreparo com ponta ultra-sônica

Na demarcação era realizada a apicectomia, utilizando-se uma broca carbide nº. 700XXL em alta-rotação refrigerada, em ângulo de 90° em relação ao longo eixo da raiz. A superfície ressectada era polida com uma broca tronco-cônica diamantada FF em alta-rotação refrigerada. As cavidades retrógradas, de 1mm de

diâmetro e 3 mm de profundidade, foram confeccionadas utilizando-se ponta MiniPiezon® diamantada para retrocavidades acoplada ao ultra-som MiniEndo® na potência média e sob constante refrigeração a água, pelo menor tempo possível, até se atingir as dimensões mencionadas. Posteriormente, uma ponta MiniPiezon® lisa era aplicada na potência média até o alisamento e definição das paredes, contornos e ângulos da retrocavidade.

Após um estudo piloto, que buscou determinar a viabilidade e o número de grupos e espécimes necessários na proposta experimental desta tese, a distribuição dos espécimes de acordo com o microorganismo e o laser utilizado segue no Quadro 4.1.

Grupos	n	Microorganismo	Descrição
G1	8	<i>E. faecalis</i>	sem aplicação de laser
G2	8	<i>E. faecalis</i>	Aplicação de laser Nd:YAG
G3	8	<i>E. faecalis</i>	Aplicação de laser Diodo
G4	8	<i>E. faecalis</i>	Aplicação de laser Er,Cr:YSSG
G5	8	<i>C. albicans</i>	sem aplicação de laser
G6	8	<i>C. albicans</i>	Aplicação de laser Nd:YAG
G7	8	<i>C. albicans</i>	Aplicação de laser Diodo
G8	8	<i>C. albicans</i>	Aplicação de laser Er,Cr:YSSG
Controle +	03	<i>E. faecalis</i>	Espécimes sem irradiação nem retrobturação
Controle -	03	<i>E. faecalis</i>	Espécimes completamente impermeabilizados

Quadro 4.1 – Distribuição dos espécimes nos grupos experimentais

Os parâmetros *input*, regulagens e intervalos de irradiação com laser Nd:YAG (1064  $\mu\text{m}$ ) seguiram a tendência dos estudos de Moritz et al. (2000) e Aun, Gavini e Aun (2004), sendo definido: modo pulsado, 1,5 W, 15 Hz, 100 mJ, fibra de 320  $\mu\text{m}$ , velocidade 1 mm/seg, 10 irradiações de 5 seg com intervalos de

20 seg a uma distância de 1 mm. Para a irradiação com laser Diodo GaAlAs (810 nm) os parâmetros determinados por Moritz et al. (1997) foram utilizados, com as especificações: pulso contínuo, 2 W, 10 Hz, fibra de 320  $\mu\text{m}$ , pulso 50 msec, velocidade 1 mm/seg, 5 irradiações de 5 seg com intervalos de 5 seg a 0,5 mm de distância. Na utilização do laser de Er,Cr:YSGG, os parâmetros foram calibrados numa nova proposta, que seguiu os trabalhos de Yamazaki et al. (2001) e Yu et al. (2004): pulso contínuo focado com duração de 140-200  $\mu\text{seg}$ , 20 Hz, 1 W, fibra de 400  $\mu\text{m}$ , 50% de refrigeração a ar, 1mm/seg, 3 irradiações de 3 seg com intervalos de 3 seg em contato com a superfície ressectada. A figura 4.2 ilustra os parâmetros e o modo como os lasers foram utilizados. Após todas as irradiações as raízes voltaram a 100% de umidade, a 37°C por 48 h.

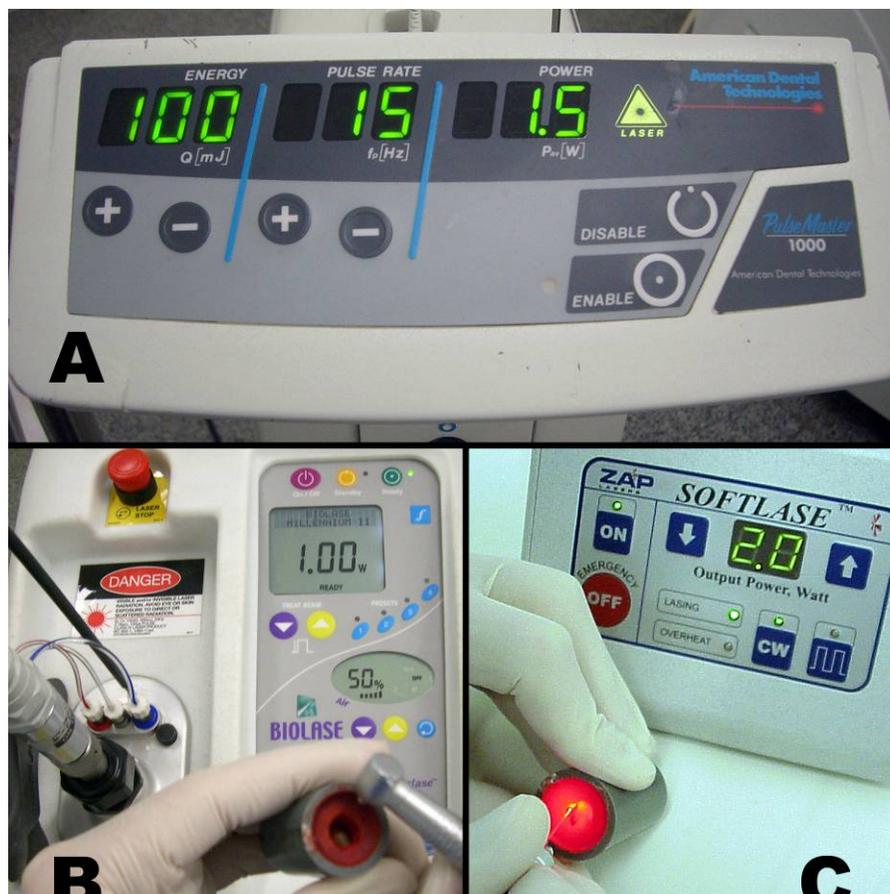


Figura 4.2 – (A) Laser Nd:YAG. (B) Laser Er,Cr:YSGG. (C) Laser Diodo 810 nm

Para impermeabilizar as raízes, todas foram secas com gaze estéril e montadas verticalmente, com a superfície ressectada para cima, em cera utilidade revestida com filme de PVC. Toda extensão das raízes, exceto a superfície apical ressectada e a abertura cervical, foram cobertas de resina epóxi (Araldite® profissional) com o auxílio de aplicadores descartáveis. Um dia após a secagem, as raízes foram fixadas em tubos de polipropileno tipo eppendorf de 2 mL, previamente cortados em sua extremidade, com a porção cervical da raiz dentro deste. O vedamento da interface raiz/tubo foi obtido com diversas camadas de éster cianoacrilato de etila (Super-Bonder® em gel) e duas camadas de esmalte de unha, as quais recobriram a parte final externa do tubo e toda a raiz, exceto na área ressectada. Este conjunto tubo eppendorf-raiz foi embalado em polipropileno e esterilizado por radiação Gama (Cobalto 60) com dose entre 22 e 25 KGy no Centro de Tecnologia das Radiações (CTR – IPEN) (anexo B).

Dentro de uma câmara de fluxo laminar previamente desinfetada, com a superfície de trabalho recoberta por campo de TNT estéril e utilizando-se luvas e avental esterilizado, o MTA foi manipulado seguindo-se as especificações dos fabricantes. O MTA era inserido e acondicionado nas retrocavidades, que foram uma a uma colocadas dentro do dispositivo de simulação (também estéril), com instrumentos manuais específicos (calcadores, brunidores e espátula de inserção) e placa de vidro esterilizados. Os excessos eram retirados cuidadosamente, utilizando-se gaze estéril umidificada com água destilada. Imediatamente após o procedimento de inserção e acomodação do MTA, este ainda permanecia por 15 minutos em contato direto com uma gaze molhada em água destilada estéril. Logo após, o conjunto tubo eppendorf-raiz (câmara superior) era posicionado em um

recipiente de vidro (câmara inferior), previamente esterilizado em autoclave, contendo 4 mL de EVA para os grupos G1, G2, G3 e G4 (*E. faecalis*) e controles ou 4 mL de TSB para os grupos G5, G6, G7 e G8 (*C. albicans*). A interface entre o tubo e o vidro foi vedada com silicone pesada, para evitar a evaporação do caldo na câmara inferior e possível contaminação. O esquema de câmaras, tubo e raiz está ilustrada na figura 4.3.

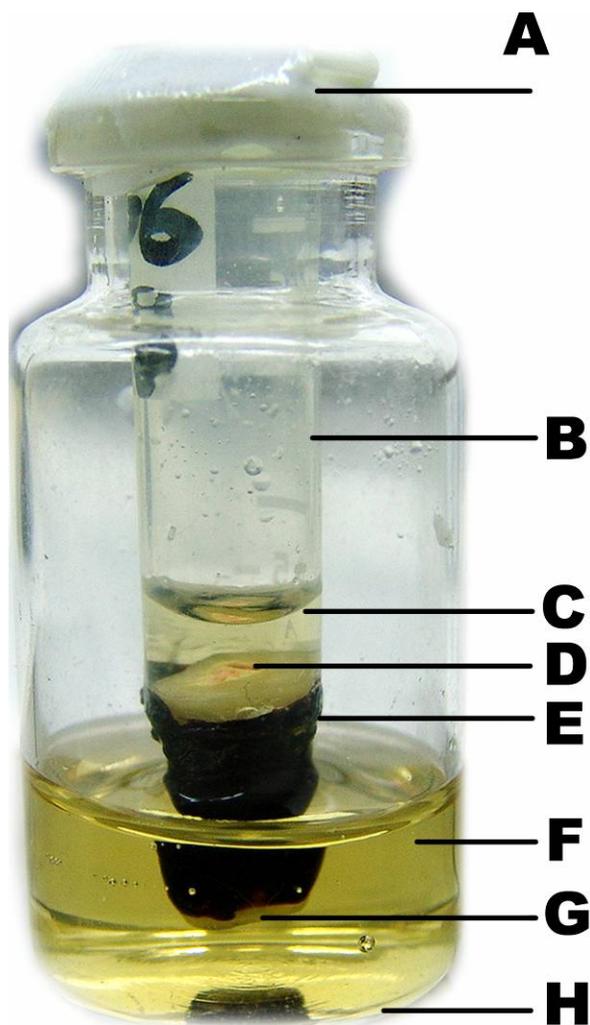


Figura 4.3 – (A) Silicone pesada vedando a interface tubo/vidro. (B) Tubo eppendorf (câmara superior). (C) Inoculo de microorganismos. (D) Entrada cervical do canal. (E) Interface tubo/raiz selada com Super-Bonder® em gel e duas camadas de esmalte de unha. (F) Meio de cultura esterilizado. (G) Superfície apical ressectada. (H) Vidro de penicilina (câmara inferior)

#### 4.2.1 Metodologia de contaminação e comprovação da microinfiltração

##### - *E. faecalis*

Toda manipulação microbiológica foi realizada sob câmara de fluxo laminar desinfetada com álcool 70% e ação de luz ultravioleta durante 5min. Também foram utilizados campos de TNT esterilizados, luvas e ponteiros esterilizados.

Um volume de 100 µL de *Enterococcus faecalis* ATCC29212, mantido em estoque a -20°C, foi inoculado em 3 mL de EVA previamente esterilizado e mantido durante 18 horas a 37°C em estufa de cultura. Após o crescimento, a suspensão foi padronizada com auxílio da escala 2 de McFarland, correspondendo a aproximadamente  $6 \times 10^8$  bactérias por mL. A seguir o tubo era agitado por 30 sec em vortex e uma alíquota de 50 µL da cultura era introduzida dentro do tubo eppendorf (câmara superior), nos espécimes dos grupos G1 à G4 e ainda nos controles positivo e negativo. Uma alíquota de 250 µL de caldo EVA esterilizado era depositada na câmara superior. A cada três dias o caldo EVA da câmara superior era renovado, removendo-se 100 µL da cultura já presente e adicionando-se 100 µL de EVA esterilizado.

Todos os dias, durante 60 dias, todos os espécimes foram cuidadosamente agitados, e verificava-se a turvação ou não na câmara inferior. Caso houvesse turvação, indicando a microinfiltração bacteriana, o espécime era automaticamente separado dos demais e uma alíquota de 10 µL da câmara inferior era semeada em uma placa de Petri contendo TSA. As placas eram incubadas durante 24 horas a

37°C. Após este período, eram observadas as características morfotintoriais das colônias em microscópio óptico (X1000), através da coloração de gram. Após 60 dias, caso a câmara inferior não turvasse, o espécime era separado e a data registrada e tabulada. Ao final do experimento, alíquotas de 10 µL de todas as câmaras superiores de todos os espécimes que não apresentaram turvação eram semeadas em placas de TSA para comprovação da viabilidade dos microorganismos na câmara superior até o final do ensaio.

#### **- *C. Albicans***

Toda manipulação microbiológica seguiu os mesmos padrões descritos para *E. faecalis*.

Para o pré-inóculo, uma alçada de *Cândida Albicans* ATCC10231 era misturada em 25 mL de Agar Sabouraud com cloranfeinicol a 0,1% de vidro esterilizado, permanecendo em temperatura ambiente durante 48 h. Após crescimento, duas “alçadas” de microorganismos eram inoculados em 3 mL de TSB esterilizado, o conjunto agitado por 30 seg em vortex e uma alíquota de 50 µL do caldo colocada dentro da câmara superior nos espécimes dos grupos G5 à G8. Uma alíquota de 250 µL de TSB esterilizado completava o volume da câmara superior. A cada três dias o caldo TSB da câmara superior era renovado, removendo-se 100 µL do caldo com crescimento e adicionando-se 100 µL de TSB esterilizado. A verificação da turvação e a confirmação da presença do microorganismo inoculado ocorreram da mesma maneira descrita para *E. faecalis*.

#### 4.2.2 Análise estatística

Após sessenta dias de coleta e tabulação dos dados, foi realizado o teste não-paramétrico e bilateral, Exato de Fischer (significância de 0,05) sobre a interação, entre grupos, do número total de espécimes microinfiltrados ou não em cada grupo. Posteriormente, foi realizado o teste de variância para amostragem não normal de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) sobre os dias corridos por todos os espécimes até a microinfiltração, sendo que para os espécimes que não infiltraram foi atribuído o valor 60.

## 5 RESULTADOS

A figura 5.1 exemplifica a turvação observada quando a microinfiltração ocorria.



Figura 5.1 – Espécime microinfiltrado (direita) comparado a outro sem microinfiltração

No controle positivo, todos os espécimes infiltraram, sendo primeiro em 1 dia, o último em 30 dias e uma média de 19 dias entre todos os espécimes. O controle negativo não apresentou microinfiltração e a viabilidade do inóculo foi comprovada, após o período experimental.

No 14<sup>o</sup> dia de experimento, oito amostras (quatro para cada microorganismo) de câmaras superiores foram colhidas aleatoriamente e semeadas em placas TSA, comprovando a viabilidade dos inóculos durante o experimento. Ao final do tempo experimental, a viabilidade dos inóculos dos espécimes que não apresentaram microinfiltração foi comprovada, e os mesmos microorganismos semeados inicialmente foram observados no final em placas TSA e lâminas com coloração de gram. Em todos os espécimes que apresentaram turvação, o microorganismo encontrado era idêntico ao inoculado inicialmente. Em nenhum espécime, em nenhum momento experimental, foi observada contaminação cruzada de microorganismos. Em todos os espécimes microinfiltrados por *C. albicans*, a observação das lâminas revelou que este microorganismo estava na forma de levedura.

Todos os grupos experimentais apresentaram, pelo menos, 50% de espécimes com microinfiltração e o grupo G2 apresentou 100% de espécimes microinfiltrados. A tabela 5.1 descreve o número e o percentual de espécimes infiltrados por grupo. Do total de 64 espécimes do estudo, 44 (68,75%) apresentaram microinfiltração.

Tabela 5.1 - Número e percentual de espécimes infiltrados por grupo

	Espécimes com Infiltração	Espécimes sem Infiltração	%
G1	4	4	50
G2	8	0	100
G3	5	3	62,5
G4	6	2	75
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>9</b>	<b>71,87</b>
G5	6	2	75
G6	5	3	62,5
G7	5	3	62,5
G8	5	3	62,5
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>11</b>	<b>65,62</b>

A tabela 5.2 demonstra a interação estatística e os valores de P encontrados entre os grupos que utilizaram *E. faecalis* como microorganismo (G1 a G4). A tabela 5.3 demonstra a interação estatística e os valores de P encontrados entre os grupos que utilizaram *C. Albicans* (G5 a G8).

Tabela 5.2 - Interação estatística entre os grupos que utilizaram *E. faecalis*

Interação	Valor de p
G1 X G2	0.0769
G1 X G3	1.0000
G1 X G4	0.6084
G2 X G3	0.2000
G2 X G4	0.4667
G3 X G4	1.0000

Tabela 5.3 - Interação estatística entre os grupos que utilizaram *C. albicans*

Interação	Valor de p
G5 X G6	1.0000
G5 X G7	1.0000
G5 X G8	1.0000
G6 X G7	1,0000
G6 X G8	1,0000
G7 X G8	1,0000

O teste Exato de Fischer não revelou, em nenhuma interação entre grupos que utilizaram *E. faecalis* ou *C. albicans*, diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

A tabela 5.4 exibe o tempo, em dias corridos, que cada espécime demorou a microinfiltrar. Através da mesma tabela, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, o qual não revelou diferença estatística entre as colunas G1, G2, G3 e G4, sendo o valor de  $p = 0.2165$  (3 graus de liberdade). Para a análise das colunas G5, G6, G7 e G8, com o mesmo teste, não foi observada diferença estatística, com um valor de  $p = 0.5782$  (3 graus de liberdade), e quando executado sobre todas as colunas, também não foi obtida diferença estatística significativa, com  $p = 0.2613$  (7 graus de liberdade).

A tabela 5.5 mostra o alcance, em dias, entre o primeiro e o último espécime microinfiltrado em cada grupo, e o tempo médio de microinfiltração de todos os espécimes por grupo. O tempo médio total de microinfiltração em todos os grupos foi de 37,64 dias.

Tabela 5.4 - Tempo, em dias corridos, que cada espécime demorou a microinfiltrar

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
1	60*	22	60*	11	41	60*	55	60*
2	16	57	24	60*	60*	57	54	37
3	60*	31	57	41	56	60*	30	60*
4	55	28	59	55	14	60*	60*	49
5	11	31	54	1	54	59	60*	52
6	60*	6	60*	60*	49	60	60*	60*
7	60*	41	60*	28	60*	3	35	53
8	50	56	22	8	46	54	3	54

\* - Espécimes que não microinfiltraram

Tabela 5.5 - Alcance entre o primeiro e o último espécime microinfiltrado e tempo médio de microinfiltração por grupo

	Alcance	Tempo médio
G1	11 – 55	33
G2	06 – 57	34
G3	22 – 59	43,6
G4	01 – 55	24
<b>Total</b>	<b>01 – 59</b>	<b>33,65</b>
G5	14 – 56	43,33
G6	03 – 60	38,83
G7	03 – 55	35,4
G8	37 – 54	49
<b>Total</b>	<b>03 – 60</b>	<b>41,64</b>

## 6 DISCUSSÃO

A Endodontia, como ciência, está em constante evolução e aprimoramento, tanto em suas bases teóricas e filosóficas, como em sua técnica operatória ou cirúrgica. Com o avanço tecnológico e científico de diversas áreas do conhecimento humano, novas metodologias foram desenvolvidas e estudos mais detalhados e precisos conseguiram nortear resultados mais promissores e satisfatórios à terapia endodôntica. Após diversas fases conceituais ao longo do século XX, o Endodontista da atualidade alcança um alto índice de sucesso, e a capacidade de resolver grande parte dos insucessos endodônticos sem recorrer a procedimentos radicais.

Porém, uma parte dessa problemática ainda permanece sem resolução, principalmente a chamada “infecção refratária”, a qual resiste à terapia endodôntica e diminui significativamente o índice de sucesso de retratamentos. Esse tipo de infecção pode ocorrer devido a diversos fatores como: anatomia do sistema de canais, qualidade da obturação, conduta técnica, biosegurança, tempo de contaminação e, primordialmente, pelo biofilme intra e extra radicular (NAIR, 2007; TRONSTAD; BARNETT; CERVONE, 1990). Segundo Peciuline et al. (2001), a composição da microflora na periodontite apical pode alterar o sucesso do tratamento, e o interesse no estudo dessa microflora cresceu principalmente pelos prognósticos ruins de retratamentos, quando comparados a tratamentos primários de canais infectados. Para Nair (2007), o biofilme intra-radicular,

permeado no delta e ramificações do terço apical de um tratamento mal conduzido, muitas vezes é o principal fator etiológico microbiano da periodontite apical pós-tratamento.

Uma vez diagnosticada, a provável patologia em questão requer uma terapia eficiente, e esta deve ser instaurada na tentativa de resolver o caso com a maior probabilidade de sucesso possível. Os autores ainda demonstram controvérsias quando indicam um retratamento cirúrgico ou não-cirúrgico. Allen, Newton e Brown Jr. (1989), Kvist e Reit (1999) não encontraram diferença entre o método de retratamento conservador e o radical em seus estudos clínicos *in vivo*, sendo os índices de sucesso 72,2% e 60%, respectivamente, para casos tratados não cirurgicamente. Hepworth e Friedman (1997) e Mead et al. (2005) criticaram metodologias empregadas em diversos estudos que compararam clinicamente as duas técnicas, principalmente quanto ao controle padronizado dos casos, constatando que muito pouco se pode correlacionar na literatura sobre este assunto. Já Maddalone e Gagliani (2003) e von Arx, Jensen e Hänni (2007), em seus estudos clínicos com técnicas operatórias mais modernas, como o uso de ultra-som no retropreparo e microscopia ótica, conseguiram bons índices de sucesso (92,5% e 83,8% respectivamente), indicando a técnica cirúrgica como opção para resolução de infecções refratárias.

No entanto, existe um consenso de que, em determinados e específicos casos, a cirurgia apical é indispensável, e deve ser utilizada com o máximo de recursos e cuidados possíveis. Dentre os diversos motivos que podem levar um caso diretamente a resolução cirúrgica, temos como principais: a presença de núcleos e pinos extensos; aberrações anatômicas apicais, radiculares e

periodontais; perfurações apicais; presença de corpo estranho na região apical; traumas radiculares; persistência de lesões, sinais e sintomas em retratamentos não-cirúrgicos bem realizados. Por muitos anos não se soube explicar por que casos bem retratados não cirurgicamente falhavam. Nair (2007) justifica que por muitos anos as metodologias de pesquisa microbiológica foram inadequadas na busca da verificação de bactérias e microorganismos em biofilmes intra e extra-radiculares. Com o aprimoramento das técnicas de verificação microbiológica, Nair et al. (1990) descrevem a presença de biofilmes intra-radiculares, e Tronstad et al. (1987) demonstram a formação de infecções endodônticas extra-radiculares, comprovando a presença de bactérias dentro de granulomas, cistos e superfícies radiculares apicais. Hoje em dia é praticamente consenso entre os pesquisadores a presença de biofilme e espécies específicas de microorganismos nos casos de infecções refratárias (NOGUCHI et al., 2005; SUNDE et al., 2002). Por estes motivos, se torna necessário o contínuo estudo da técnica de cirurgia apical, na busca de melhores índices de sucesso, já que esta ainda é preferencialmente indicada em situações extremas como as descritas.

O manejo do ápice durante os procedimentos cirúrgicos endodônticos ainda está em constante aperfeiçoamento. A ressecção apical, confecção da retrocavidade, tratamento da superfície ressectada e retrobturação são passos cirúrgicos primordiais, descritos desde 1915 segundo Garvin (1942). Gutmann e Pitt Ford (1993) ressaltam diversos fatores essenciais para o adequado manejo e sucesso das cirurgias apicais, sendo a apicectomia e retrobturação os principais. A técnica de apicectomia deste estudo foi parcialmente baseada no artigo de Morgan e Marshall (1998), sendo a única diferença a utilização de uma broca de

acabamento diamantada FF em nossa proposta. O estudo realizado por Gilheany, Figdor e Tyas (1994) justifica o corte do ápice perpendicular ao longo eixo da raiz, pois esta proposta diminui significativamente a microinfiltração da retrobturação, gerando menor comunicação entre o sistema endodôntico e os tecidos circundantes.

A técnica de retropreparo utilizada em nossa metodologia está embasada nos trabalhos de Leite e Gavini (2006), Morgan e Marshall (1999), Rainwater, Jeansonne e Sarkar (2000), Wuchenich, Meadows e Torabinejad (1994) e principalmente por Testori et al. (1999), que mostraram um aumento significativo no índice de sucesso da cirurgia apical quando do uso de pontas ultra-sônicas no retropreparo. É importante notar que diversos detalhes operatórios como: tipo de broca, velocidade do motor (alta ou baixa potência), potência ultra-sônica, tipo de ponta ultra-sônica, ângulo de corte, profundidade da retrocavidade e tempo de uso do ultra-som, entre outros, são fatores relevantes quando do manejo apical. Todos podem influenciar diretamente a microinfiltração retrógrada devido, principalmente, a: formação de *cracks*, abertura ou exposição de túbulos dentinários na superfície apical ressectada, espessura dentinária das paredes da retrocavidade e regularidade do preparo e da superfície apical ressectada (TOBÓN-ARROYAVE et al., 2007). É observado, nos estudos de microinfiltração retrógrada, que alguns autores negligenciam detalhes sobre estes passos operatórios quando descrevem sua metodologia de trabalho (KOS; AULOZZI; GERSTEIN, 1982), principalmente quanto a potencia ultra-sônica, tipo de ponta e tempo necessário para se realizar a retrocavidade com ultra-som (ADAMO et al., 1999; FISHER; ARENS; MILLER, 1998; MANGIN et al., 2003; SCHEERER; STEIMAN; COHEN, 2001).

A retrobturação requer atenção especial do endodontista, não somente pela sua dificuldade técnica, mas devido à escolha do material a ser empregado, podendo este influenciar drasticamente o prognóstico cirúrgico. Deste modo, é necessário constante estudo e aperfeiçoamento sobre os diferentes materiais retrobturadores, na busca de qualidades e capacidades adequadas para seu emprego. Não somente o material em si, mas conjuntamente sua adaptação, quando inserido na retrocavidade e nível de selamento alcançado neste sítio após sua presa.

Foi utilizado o mineral trióxido agregado, ou MTA, como único material retrobturador neste estudo. Este material possui como pontos favoráveis, ótima biocompatibilidade, capacidade de presa na umidade, selamento superior na presença de umidade ou sangue, boa adaptação marginal, radiopacidade, não corrosivo, não reabsorvível, antifúngico e indutor de neoformação tecidual periodontal (AQRABAWI, 2000; ECONOMIDES et al., 2003; KEISER; JOHNSON; TIPTON, 2000; JOHNSON, 1999; MOHAMMADI; MODARESI; YAZDIZEDEH, 2006; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993; TORABINEJAD et al., 1994, 1995c, 1995d, 1997, 1998). Como pontos desfavoráveis, o MTA apresenta: difícil manipulação e manejo, não possui capacidade antibacteriana expressiva e pouca resistência a forças de compressão (TORABINEJAD et al., 1995a, 1995b). Desde 1993, um pesquisador em especial revelou e destrinchou o MTA, demonstrando características e propriedades desse material frente a diversas situações *in vitro* e *in vivo*. Torabinejad e sua equipe (TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993; TORABINEJAD et al., 1994, 1995a, 1995b, 1995c, 1995d, 1997, 1998) praticamente asseguraram o uso responsável e embasado do MTA como material

retrobturador de escolha. O MTA utilizado neste estudo foi da cor branca, que comprovadamente apresenta grande semelhança e até superioridade quando comparado com o MTA cinza (ASGARY et al., 2005).

Concomitantemente, novas tecnologias se tornaram disponíveis ao cirurgião-dentista na busca da melhor e mais eficiente técnica operatória. Um “boom” nas tecnologias ópticas e fotônicas industriais, aliado aos novos conceitos e teorias da Medicina sobre a interação luz/tecido trouxeram, nas décadas de 80 e 90, possibilidades de aplicação de diversos tipos de lasers em tecidos bucais e dentais.

Os lasers de alta potência, ou “cirúrgicos”, têm a capacidade de emitir grande quantidade de energia em pequenos focos e/ou pulsos, o que lhes confere a capacidade de corte, abertura ou selamento/derretimento de tecidos duros (CAMARGO et al., 1999; EKWORAPOJ; SIDHU; McCABE, 2007; LIU; LIN; LAN, 1997; MORITZ et al., 1997; OLIVEIRA et al., 2004; STABHOLZ et al., 1992a, 1992b; WALLACE, 2006; YAMAZAKI et al., 2001; YU et al., 2004;), além do desejado poder antimicrobiano (MORITZ et al. 2000; SCHOOP et al., 2004). Já os lasers de baixa potência, ou “terapêuticos”, atuam num espectro mais baixo e com menos energia, sendo indicados em casos de bio-estimulação ou modulação inflamatória entre outros. Em pouco tempo os lasers se tornaram disponíveis em diversos centros de pesquisa do mundo, e inicialmente os de alta potência CO<sub>2</sub>, Nd:YAG e Er:YAG viraram foco das atenções na Endodontia e Periodontia. Com o tempo, novos lasers foram surgindo no mercado, como o Diodo 810 nm e, mais recentemente, o érbio cromo (Er,Cr:YSGG), os quais também entraram para lista dos mais estudados em Endodontia.

A partir dos primeiros relatos sobre o efeito de fusão e ressolidificação de tecido dentinário, após irradiação com os lasers Nd:YAG e Diodo, observado em MEV por Stabholz et al. (1992a, 1992b) e Moritz et al. (1997) respectivamente, surgiu a proposta de se conseguir a diminuição da permeabilidade dentinária na superfície apical ressectada, inclusive nas paredes da retrocavidade. Esse efeito também foi conseguido em canais radiculares por Yu et al. (2004) com o laser de Er,Cr:YSGG. Essa alteração na morfologia e ultra-estrutura dentinária, principalmente pelo brusco e poderoso aumento de temperatura no foco do raio laser, poderia otimizar o selamento e adaptação marginal dos materiais retrobturadores, e melhorar o prognóstico das cirurgias apicais. Mas poucos estudos procuraram verificar os efeitos dessas interações na microinfiltração retrógrada de maneira padronizada e sistemática (CAMARGO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2004; SOUZA; AMORIM; LAGE-MARQUES, 2006; STABHOLZ et al., 1992a; WINIK et al., 2006). Em todos estes estudos, a microinfiltração de corante foi o único método utilizado para avaliar a microinfiltração de diversos tipos e materiais retrobturadores. Nenhum estudo até os dias atuais verificou, *in vivo* ou clinicamente em humanos, se este efeito pode realmente melhorar o índice de sucesso de cirurgias apicais. Outra grande problemática dos estudos com lasers é a falta de protocolos ou padronizações nos parâmetros de irradiação dos diferentes lasers.

À medida que a sociedade se desenvolve, novas tecnologias surgem para melhorar condutas e processos já existentes. O mesmo ocorre na ciência, que através do aprimoramento de metodologias, consegue ampliar seu horizonte de verdades. Porém, quando os métodos são ambíguos, duvidosos, mal propostos e

executados incorretamente, as “verdades” podem não corresponder com a realidade. Não somente isto: o cientista deve ter muita cautela ao descrever seus métodos e resultados, procurando somente fazer ilações baseadas em fatos científicos comprovados por meticulosa execução do método, análise estatística precisa e rotinas passíveis de reprodução. A ciência é dinâmica, multifocal e, em parte, relativa. É um universo onde a “verdade” pode mudar de acordo com métodos, parâmetros e *modus operandi*.

Nos estudos de microinfiltração e selamento endodôntico particularmente, uma enorme quantidade de trabalhos e pesquisas, ao longo de décadas, discutiu os métodos de avaliação e fatores que podem influenciar os resultados. Por ser uma avaliação altamente específica, que é afetada por diversos fatores críticos, muitas vezes não relacionados, a própria análise das metodologias de avaliação da microinfiltração, e a relevância clínica desses estudos, por diversas vezes se torna o foco principal a ser contemplado (BARTHEL et al., 1999; CAMPS; PASHLEY, 2003; PASHLEY, 1990; TANOMARU FILHO; FIGUEIREDO; TANOMARU, 2005; WU; WESSELINK, 1993; WU; KONTAKIOTIS; WESSELINK, 1998; VOGT et al., 2006;).

Atualmente vivemos a fase microbiológica nas metodologias científicas *in vitro*. Os métodos que recriam a realidade biológica em laboratório, principalmente a microbiologia e cultura de células, ganham notório espaço em periódicos internacionais, devido a maior proximidade destas com a situação clínica. Kos, Aulozzi e Gerstein (1982) foram os pioneiros em utilizar a penetração de microorganismos para avaliar a microinfiltração na obturação retrógrada, e continuamente este tipo de metodologia vêm sendo proposta e aprimorada como

modelo de avaliação *in vitro* (ADAMO et al., 1999; FISCHER; ARENS; MILLER, 1998; KERSTEN; MOORER, 1989; MANGIN et al., 2003; MALTEZOS et al., 2006; SCHEERER; STEIMAN; COHEN, 2001; SIQUEIRA Jr. et al., 2001; TORABINEJAD et al., 1995c). Os principais benefícios deste modelo de metodologia são: eliminar a subjetividade de avaliações semi-quantitativas que dependem do fator humano como “filtro” para coleta de dados e resultados; maior proximidade com a realidade clínica; menor quantidade de fatores que podem “mascarar” os resultados. Como pontos desfavoráveis, esta metodologia apresenta: uso de poucas espécies de microorganismos; falta de presença de fluídos orgânicos; falta de quantificação de bactéria; as alterações estruturais em dentes extraídos; curto período de avaliação (ADAMO et al., 1999).

Ao mesmo tempo, estudos utilizando corante como método de avaliação da microinfiltração foram reconsiderados e questionados devido a vários fatores como: tamanho das partículas envolvidas; descoloração frente a materiais; falta de padronização dos métodos; sensibilidade ao pH; dados semi-quantitativos e que necessitam de avaliação humana; diferença de comportamento dos corantes frente aos mesmos métodos e materiais, gerando resultados dúbios e controversos (BARTHEL et al., 1999; CAMPS; PASHLEY, 2003; TANOMARU FILHO; FIGUEIREDO; TANOMARU, 2005; VOGT et al., 2006; WU; WESSELINK, 1993; WU; KONTAKIOTIS; WESSELINK, 1998). Nossa própria linha de pesquisa (AUN; AUN; POLONIATO, 2004; AUN; GAVINI; AUN, 2004) utilizou corantes como marcadores, mas devido a tantos relatos contrários a este modelo, passamos a adotar a microinfiltração de microorganismos como método de avaliação do selamento em retrobturações.

O projeto inicial deste estudo contemplava a utilização de endotoxina como método totalmente quantitativo. A percolação de moléculas de endotoxina (LPS) reconstituída de *E. coli*, através das obturações e retrobturações, turvaria a água apirogênica da câmara inferior devido a uma reação de turbidez, que é passível de ser quantificada em espectrofotometria. Os valores da densidade óptica obtidos chegam a cinco casas decimais de confiabilidade e podem ser transformados em unidades de endotoxina. Um estudo piloto foi realizado, mas devido a não homogeneidade dos resultados, o modelo teve que ser substituído pela utilização de microorganismos. O principal influente nessa falta de padrão de microinfiltração pode ter sido o fato de o MTA possuir pH em torno de 11,8 – 12,5 na superfície, o que pode inativar a endotoxina que, segundo o fabricante, suporta somente pH até 11.

Como nenhum estudo na literatura correlacionou a irradiação laser de alta potência, na superfície apical ressectada e retrocavidade, com a microinfiltração bacteriana e fúngica, é de fundamental importância a realização deste trabalho experimental. Vale ressaltar que outros detalhes como o dispositivo de simulação de dificuldades operatórias e a utilização de fungos na microinfiltração retrógrada são inovações inéditas nesse tipo de metodologia. Toda a metodologia deste trabalho procurou recriar, dentro de suas limitações, a condição clínica real de dentes com indicação de cirurgia periapical, e também a técnica que seria eleita para resolver estes casos com a maior previsibilidade.

Os resultados deste estudo evidenciaram que todos os grupos experimentais apresentaram microinfiltração, sendo a média geral do trabalho de 68,75%. Os controles apresentaram os padrões de resultados esperados. Não foi

observada, em nenhum momento, a contaminação cruzada de microorganismos e a viabilidade dos inóculos foi comprovada antes, durante e ao final do tempo experimental. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos experimentais, tanto para *E. faecalis* e *C. albicans*, o que demonstra que a irradiação laser de alta potência não alterou o padrão de microinfiltração dos microorganismos, quando comparado aos espécimes não irradiados. Igualmente, o tipo de microorganismo não alterou o padrão de resultados deste estudo.

Indiscutivelmente os lasers Nd:YAG, Diodo 810 nm e Er,Cr:YSGG possuem capacidade de alterar a estrutura e a permeabilidade dentinária (frente a corantes), mas o mesmo não pode ser afirmado quanto à prevenção da microinfiltração de microorganismos, como demonstrado neste estudo. Frente a *E. faecalis*, os lasers de alta potência não foram capazes de melhorar o microselamento, sendo que o grupo G1, sem irradiação, apresentou 50 % de espécimes microinfiltrados, contra 100 % em G2, 62,5 % em G3 e 75 % em G4. Observando os resultados frente a *C. albicans*, os lasers se mostraram um pouco mais efetivos contra a microinfiltração, onde 62,5 % dos espécimes microinfiltraram, perante 75 % do grupo G5 (sem irradiação). Aparentemente, o derretimento, fusão e ressolidificação da superfície dentinária, efeitos comprovados quando do uso dos lasers utilizados neste estudo (LIU; LIN; LAN, 1997; MORITZ et al., 1997; STABHOLZ et al., 1992a, 1992b; YU et al., 2004), não foram capazes de melhorar o selamento do MTA frente à *E. faecalis* e *C. albicans*, pois os resultados observados não revelaram diferença estatística significativa entre os grupos. Como explicação para este fato, temos algumas hipóteses: os parâmetros utilizados, a presença de umidade e a incidência do raio laser.

Os parâmetros utilizados neste estudo para o laser Nd:YAG (AUN; GAVINI; AUN, 2004; MORITZ et al., 2000) e Diodo (MORITZ et al., 1997), seguem recomendações que visam primeiramente erradicar microorganismos dos túbulos dentinários, sendo este o maior benefício da utilização destes aparelhos segundo Schoop et al. (2004). Mesmo a descontaminação não sendo o foco deste estudo, parte-se do princípio microbiológico de que aliar descontaminação e selamento, *in vivo*, é mais adequado do que somente selamento. Desta maneira, partimos da premissa de que, ao se utilizar clinicamente um laser de alta potência na cirurgia apical, a descontaminação seria prioridade. Os parâmetros para o laser de Er,Cr:YSGG, diferentemente, foram baseados em estudos de análise morfológica em MEV e microinfiltração com corante (YAMAZAKI et al., 2001; YU et al., 2004), pois estes eram os mais próximos das condições experimentais deste estudo. Ainda não foi descrito na literatura parâmetros de irradiação que possam, primeiramente, descontaminar dentina radicular em profundidade e, sequencialmente, diminuir a microinfiltração de microorganismos. Os resultados obtidos neste estudo podem indicar um início de propostas para parâmetros específicos visando estes objetivos, pois, mesmo não havendo diferença significativa, os lasers diminuíram a microinfiltração frente a *C. albicans*. Possivelmente os parâmetros destes lasers, se melhor estudados para a redução da microinfiltração de microorganismos em obturações retrógradas, e não somente corantes, poderiam proporcionar melhores condições de selamento.

Os lasers de alta potência podem ter seus efeitos alterados quando da presença, ou não, de umidade ou sangue no sítio de irradiação, pois a absorção energética está diretamente ligada à quantidade de moléculas de água nos tecidos

(GUTKNECHT; FRANZEN, 2004). Kreisler et al. (2002) reportam que a presença ou não de solução fisiológica não causou alteração na irradiação de Diodo sobre superfícies radiculares, porém severa destruição foi observada quando uma fina camada de sangue estava presente. O Nd:YAG possui igualmente afinidade pelo sangue e é absorvido pela hemoglobina e melanina (GUTKNECHT; FRANZEN, 2004). Já o laser de Er,Cr:YSGG requer moléculas de água para ser efetivo em sua ação de ablação e abertura de túbulos dentinários (WALLACE, 2006; YAMAZAKI et al., 2001). Porém para ação de selamento de túbulos, somente Yu et al. (2004) relataram este efeito com o uso do Er,Cr:YSGG (P = 1 W / sem *spray* de água). Como a retrocavidade irradiada neste estudo estava permanentemente em ambiente úmido, existe a possibilidade da alteração do efeito dos lasers. Todavia, este não parece ser o fator principal que poderia explicar os resultados, pois em estudos prévios (AUN; AUN; POLONIATO, 2004; AUN; GAVINI; AUN, 2004) as mesmas condições pareceram não alterar o efeito dos lasers sobre a permeabilidade dentinária.

Por último, o ângulo de incidência do feixe laser, devido à dificuldade operatória imposta pelo dispositivo, pode alterar o efeito dos lasers de alta potência (KREISLER et al., 2002; SANTOS et al., 2005). Um estudo de Santos et al. (2005), que avaliou a irradiação perpendicular ou paralela do laser de Nd:YAG, através de fibra ótica, sobre a superfície dentinária radicular, comprovou a diferença entre os ângulos de incidência sobre os efeitos de diminuição da permeabilidade dentinária. Notoriamente, um feixe perpendicular terá efeito pleno sobre a superfície, mas, quando se irradia uma retrocavidade, esse ângulo é praticamente impossível de se conseguir através de fibras óticas, devido à

anatomia e profundidade do sítio. Mais estudos sobre ângulos de irradiação e meios de entrega da luz laser devem ser conduzidos para minimizar este fato.

Os resultados deste experimento dificilmente podem ser comparados aos encontrados na literatura, principalmente devido ao método de avaliação da microinfiltração retrógrada. Se compararmos, independente dos materiais estudados e do método de avaliação, nossos resultados vão em confronto com os estudos de Aun, Gavini e Aun (2004), Camargo et al. (1999), Moritz et al. (1997), Oliveira et al. (2004), Stabholz et al. (1992b) e Yu et al. (2004), que observaram diminuição na microinfiltração quando do uso dos mesmos lasers deste estudo. Contudo, nossos resultados corroboram com os estudos de Souza, Amorim e Lage-Marques (2006) e Winik et al. (2006), onde a irradiação laser não alterou a microinfiltração retrógrada. Diante do exposto, a principal razão que poderia explicar os resultados divergentes que concernem o uso de lasers almejando um melhor selamento retrógrado, é o método de avaliação da microinfiltração e a capacidade seladora do material retrobturador, e não somente sua interação com a dentina radicular. Neste estudo, onde a contaminação por microorganismos se mostrou um método efetivo para avaliação do selamento retrógrado, os lasers não conseguiram impedir a microinfiltração em, pelo menos, 62,5 % (5 em 8) dos espécimes em todos os grupos irradiados.

É interessante ressaltar que, a olho nu, o operador pôde observar formação de carbonizações na superfície apical ressectada e retrocavidade, em diversos espécimes irradiados pelos 3 lasers nos parâmetros propostos neste estudo. Posteriormente, pretende-se observar as superfícies irradiadas dos espécimes deste estudo em MEV.

Um ponto-chave desta discussão está ligado às interfaces entre os materiais e as paredes dentinárias. Após todos os passos cirúrgicos de uma cirurgia apical, uma nova interface tripla é criada dentro do canal radicular. Esta interface está no ponto mais profundo da retrocavidade, sendo constituída de: paredes axiais de dentina radicular, assoalho de guta-percha associada ao cimento obturador e MTA preenchendo toda a cavidade e entrando em íntimo contato com as paredes e o assoalho. Tanto a ponta ultra-sônica como os lasers de alta potência possuem capacidade de alterar a guta-percha, possivelmente deslocando-a ou removendo-a, e a dentina. Essa interface também é de difícil preenchimento quando se utiliza o MTA nas condições propostas. A invasão de microorganismos oriundos da entrada cervical do canal radicular contamina e infiltra as retrobturações a partir desta interface. Todos os estudos revisados que utilizaram a avaliação de microinfiltração bacteriana em retrobturações não utilizaram a obturação do canal em seus modelos experimentais, possivelmente para eliminar este fator (ADAMO et al., 1999). Não consideramos esta proposta adequada, pois, com isto, estaríamos nos distanciando da realidade clínica e eliminando esta interface, que pode ser crítica para avaliar a *performance* do selamento ou da microinfiltração. Analisando os resultados deste estudo, podemos constatar que a obturação do canal radicular não interferiu nos resultados, pois os grupos apresentaram homogeneidade em seus dados.

Quando analisamos os resultados, do ponto de vista dos microorganismos escolhidos e do padrão de microinfiltração observado nos grupos, acreditamos estar em acordo com a maioria dos estudos prévios que utilizaram MTA como um dos materiais retrobturadores (ADAMO et al., 1999; FISCHER; ARENS; MILLER,

1998; MALTEZOS et al., 2006; MANGIN et al., 2003; SCHEERER; STEIMAN; COHEN, 2001; TORABINEJAD et al., 1995c). Em todos estes estudos o MTA apresentou microinfiltração bacteriana em alguns de seus espécimes. Em nenhum estudo prévio, a marca de 100% de microinfiltração bacteriana dentre os espécimes de grupos experimentais retrobturados com MTA foi observada, o que contraria o grupo G2 deste trabalho. Mesmo que este grupo não tenha apresentado diferença estatística frente aos outros, temos que considerar que a aplicação do laser Nd:YAG, nos parâmetros e condições deste estudo, possa ter influenciado negativamente o selamento do MTA frente a *E. faecalis*. Temos que considerar também o número modesto de espécimes em cada grupo neste estudo, o que pode afetar uma análise estatística mais apurada.

Os microorganismos utilizados foram escolhidos devido a sua constante presença e associação com infecções refratárias, segundo Kishen, George e Kumar (2006), Miletic et al. (2002), Peciuliene et al. (2001), Portainer, Waltimo e Haapasalo (2003), Siqueira Jr. e Sen (2004), Sunde et al. (2002) e Waltimo et al. (1997). Porém, dentre os estudos revisados, somente Mangin et al. (2003) utilizaram *E. faecalis* e Miletic et al. (2002) testaram *C. albicans* como microorganismos na avaliação de microinfiltração endodôntica, demonstrando sua capacidade de atravessar todo o sistema de canais obturados ou retrobturados, o que está de acordo com os resultados deste estudo.

*Enterococcus faecalis* é descrita como uma enterobactéria anaeróbia facultativa, gram-positiva, de formato esférico ou ovóide, com diâmetro entre 0,02 e 0,08  $\mu\text{m}$ , altamente resistente a alterações ambientais (temperatura e pH) e

pode, em algumas espécies, possuir minúsculos flagelos para locomoção (MORITZ et al., 2000; PORTEINER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003). Kishen, George e Kumar (2006) descrevem três estágios da invasão, colonização e formação de biofilme de *E. faecalis* em paredes dentinárias radiculares: 1) formação do biofilme sobre a dentina; 2) dissolução da fração mineral dentinária induzida pelas bactérias; 3) uma camada de apatita reprecipitada na formação da estrutura do biofilme. Essa capacidade de dissolver porções minerais e usá-las para formar biofilme pode ser correlacionada aos índices de microinfiltração observados neste estudo de maneira que, não importando o tratamento dentinário realizado entre a interface dentina/MTA, o biofilme de *E. faecalis* pode ser formado e sucessivamente progredir até o ápice.

O fungo *Candida albicans*, do domínio Eukaryota, é constantemente isolado de infecções endodônticas refratárias, geralmente sob a forma de levedura ou mofo (hifas), e possui diversos fatores de virulência como: adaptação a diversas condições ambientais; adesividade e formação de biofilme sob diversas superfícies; produção de enzimas hidrolíticas; transição morfológica; capacidade de evasão e imunomodulação da defesa do hospedeiro (SIQUEIRA Jr.; SEN, 2004). A capacidade de invadir francamente e formar biofilme em estruturas dentárias, como esmalte e dentina, foi observada por Sen, Safavi e Spångberg (1997), que reportaram ser as formas de leveduras e hifas as responsáveis por tal colonização, inclusive em *cracks* e no interior de túbulos. Waltimo et al. (1997), ao cultivarem *C. albicans* oriundas de infecções refratárias, ressaltam a capacidade desta espécie, que possui entre 3 e 8  $\mu\text{m}$  na forma de levedura, em invadir túbulos

dentinários radiculares em diversas situações. O poder antifúngico do MTA, descrito por Mohammadi, Modaresi e Yazdizadeh (2006), pareceu não impedir a passagem de *C. albicans* pela interface dentina/MTA neste estudo.

As propriedades de presa e selamento do MTA, quando utilizado como cimento obturador intracanal, foram recentemente estudadas por Chogle et al. (2007). Avaliando a capacidade do selamento do MTA, com tempos de presa de 4 h, 2 dias e uma semana, frente a *E. faecalis*, foi observado que a microinfiltração caiu significativamente quando o tempo de presa aumentava. Porém, este estudo utilizou obturações de MTA de 9 mm de comprimento. Como as retrobturações de MTA em nosso estudo permaneceram constantemente em 100% de umidade, seja por 15 min na água destilada, ou por 60 dias em contato com o meio de cultura, acreditamos que esse fator também não tenha influenciado os resultados, devido ao fato de que somente 4 dos 64 espécimes (6,25%) infiltraram antes dos 7 dias.

O período de tempo, em dias, utilizado neste estudo para avaliar a microinfiltração dos microorganismos foi de 60 dias. Esse período foi escolhido com base no estudo de Siqueira Jr. et al. (2001) e de estudo piloto prévio. Comparando os artigos revisados que avaliaram o período de microinfiltração de microorganismos (ADAMO et al., 1999; FISCHER; ARENS; MILLER, 1998; KOS; AULOZZI; GERSTEIN, 1982; MANGIN et al., 2003; MALTEZOS et al., 2006; MILETIĆ et al., 2002; SCHEERER; STEIMAN; COHEN, 2001; SIQUEIRA Jr. et al., 2001; TORABINEJAD et al., 1995c), podemos concluir que não existe nenhum tipo de padronização em relação a este período, pois a variação foi muito expressiva entre os estudos (período mínimo de 24 e máximo de 120 dias, com uma média de 61,9 dias de avaliação).

Outros fatores que poderiam afetar o microselamento das retrobturações de MTA neste estudo são os métodos de esterilização das raízes e seus efeitos sobre a estrutura dentinária. White et al. (1994), demonstraram que a irradiação gama, utilizada para fins de esterilização, não altera a estrutura dentinária e sua permeabilidade. A utilização de autoclave para descontaminar raízes é largamente utilizada e parece não alterar significativamente a estrutura e permeabilidade da dentina (PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993). Em nenhum estudo revisado, o pH dos meios de cultura, que neste estudo variam entre 7 e 7,5, em contato prolongado com o MTA, pareceu alterar o padrão de microinfiltração deste material.

Diante dos dados observados neste estudo, e de toda revisão da literatura envolvendo do tema, é necessário que tenhamos consciência da variabilidade de detalhes e métodos quando discorremos sobre microinfiltração em obturações retrógradas. Da mesma maneira, o uso racional do laser deve ser embasado em mais estudos voltados especificamente para esta finalidade, sob diversas condições, parâmetros e modos de avaliação. A busca de modelos experimentais mais próximos da realidade clínica, que possam gerar dados quantitativos, que sejam padronizados e reprodutíveis, deve ser o foco constante dos pesquisadores de laboratório e de estudos *in vitro*.

## 7 CONCLUSÃO

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

- A irradiação dos lasers Nd:YAG, Diodo 810 nm ou Er,Cr:YSGG sobre a superfície apical ressectada e retrocavidade não influenciou o selamento de retrobturações de MTA frente a microinfiltração bacteriana e fúngica *in vitro*.
- Não houve diferença estatística significativa ( $p > 0.07$ ) no padrão de microinfiltração entre os grupos irradiados por diferentes lasers de alta potência ou entre os dois tipos de microorganismos.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

- Adamo HL, Buruiana R, Schertzer L, Boylan RJ. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *Int Endod J*. 1999 May;32(3):197-203.
- Allen RK, Newton CW, Brown CE Jr. A statistical analysis of surgical and nonsurgical endodontic retreatment cases. *J Endod*. 1989;15(6):261-6.
- Aqrabawi J. Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials. *Br Dent J*. 2000;188(5):266-8.
- Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Brink F. Chemical Differences Between White and Gray Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod*. 2005;31(2):101-3.
- Aun CE, Silva LX. Observação in vitro da infiltração marginal de obturações retrógradas em dentes apicectomizados com e sem aplicação de laser CO<sub>2</sub>. *Rev Odontol UNICID*. 1995;7(2):73-81.
- Aun CA, Aun CE, Poloniato M. Avaliação da microinfiltração do MTA e Super-EBA com e sem a aplicação de laser CO<sub>2</sub> e análise complementar em MEV. *Rev Odontol UNICID*. 2004;16(3):241-6.
- Aun CA, Gavini G, Aun CE. Influência dos lasers Nd:YAG e diodo na microinfiltração retrógrada do MTA in vitro. *Braz Oral Res*. 2004;18Supp:209.
- Barthel CR, Moshonov J, Shuping G, Orstavik D. Bacterial leakage versus dye leakage in obturated root canals. *Int Endod J*. 1999;32(5):370-5.
- Bates CF, Carnes DL, del Rio CE. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod*. 1996;22(11):575-8.
- Camargo SCC, Gavini G, Eduardo CdP, Aun CE, Ribeiro LWN, Coil JM. Association of Er:YAG and Nd:YAG irradiation for apicoectomy and retrofilling cavity preparation

---

<sup>1</sup> De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

compared to conventional technique: a permeability study. SPIE Proceedings of Lasers in Dentistry V 1999;3593:1-6.

Camps J, Pashley DH. Reliability of the Dye Penetration Studies. J Endod. 2003;29(9):592-4.

Chogle S, Mickel AK, Chan DM, Huffaker K, Jones JJ. Intracanal assessment of mineral trioxide aggregate setting and sealing properties. Gen Dent. 2007;55(4):306-11.

Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. Int Endod J. 2003;36(1):44-8.

Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er,Cr:YSGG laser on human dentine. Lasers Med Sci. 2007;22(3):175-82.

Fischer EJ, Arens DE, Miller CH. Bacterial Leakage of Mineral Trioxide Aggregate as Compared with Zinc-Free Amalgam, Intermediate Restorative Material, and Super-EBA as a Root-End Filling Material. J Endod. 1998;24(3):176-9.

Garvin MR. Root resection. J Can Dent Assoc. 1942;8:126-9.

Gilheany PA, Figdor D, Tyas MJ. Apical dentin permeability and microleakage associated with root end resection and retrograde filling. J Endod. 1994;20(1):22-6.

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

Gutknecht N, Franzen R. O laser: função, interação e segurança. In: Gutknecht N, Eduardo CP. A odontologia e o laser. 1ª ed. São Paulo: Quintessence; 2004. p. 25-60.

Gutmann JL, Pitt Ford TR. Management of the resected root end: a clinical review. Int Endod J. 1993;26(5):273-83.

Hepworth MJ, Friedman S. Treatment outcome of surgical and non-surgical management of endodontic failures. J Can Dent Assoc. 1997;63(5):364-71.

Johnson BR. Considerations in the selection of a root-end filling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;87(4):398-404.

Keiser K, Johnson CC, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod.* 2000;26(5):288-91.

Kersten HW, Moorer WR. Particles and molecules in endodontic leakage. *Int Endod J.* 1989;22(3):118-24.

Kishen A, George S, Kumar R. Enterococcus faecalis-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. *J Biomed Mater Res A.* 2006;77(2):406-15.

Kos WL, Aulozzi DP, Gerstein H. A comparative bacterial microleakage study of retrofilling materials. *J Endod.* 1982;8(8):355-8.

Kreisler M, Al Haj H, Daubländer M, Götz H, Duschner H, Willershausen B, et al. Effect of Diode Laser Irradiation on Root Surfaces in Vitro. *J Clin Laser Med Surg.* 2002;20(2):63–9.

Kvist T, Reit C. Results of Endodontic Retreatment: A Randomized Clinical Study Comparing Surgical and Nonsurgical Procedures. *J Endod.* 1999;25(12):814-7.

Leite ACVM, Gavini G. Avaliação de duas pontas ultrassônicas para retro-preparo, empregadas em diferentes potências. *Rev Odontol UNICID.* 2006;18(1):23-8.

Liu HC, Lin CP, Lan WH. Sealing Depth of Nd:YAG Laser on Human Dentinal Tubules. *J Endod.* 1997;23(11):691-3.

Maddalone M, Gagliani M. Periapical endodontic surgery: a 3-year follow-up study. *Int Endod J.* 2003;36(3):193-8.

Maltezos C, Glickman GN, Ezzo P, He J. Comparison of the Sealing of Resilon, Pro Root MTA, and Super-EBA as Root-End Filling Materials: A Bacterial Leakage Study. *J Endod.* 2006;32(4):324-7.

- Mangin C, Yesilsoy C, Nissan R, Stevens R. The Comparative Sealing Ability of Hydroxyapatite Cement, Mineral Trioxide Aggregate, and Super Ethoxybenzoic Acid as Root-End Filling Materials. *J Endod.* 2003;29(4):261-4.
- Mead C, Javidan-Nejad S, Mego ME, Nash B, Torabinejad M. Levels of Evidence for the Outcome of Endodontic Surgery. *J Endod.* 2005;31(1):19-24.
- Miletic I, Prpie -Mehifie G, Maruan T, Tambie -Andrauevie A, Pleuko S, Karlovie Z, et al. Bacterial and fungal microleakage of AH26 and AH Plus root canal sealers. *Int Endod J.* 2002;35(5):428-32.
- Mohammadi Z, Modaresi J, Yazdizadeh M. Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. *Aust Endod J.* 2006;32(3):120-22.
- Morgan LA, Marshall JG. A Scanning Electron Microscopic Study of In Vivo Ultrasonic Root-End Preparations. *J Endod.* 1999;25(8):567-70.
- Morgan LA, Marshall JG. The topography of root ends resected with fissure burs and refined with two types of finishing burs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(5):585-91.
- Moritz A, Gutknecht N, Goharkhay K, Schoop U, Wernisch J, Sperr W. In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence Int.* 1997;28(3):205-9.
- Moritz A, Jakolitsch S, Goharkhay K, Schoop U, Kluger W, Mallinger R, et al. Morphologic Changes Correlating to Different Sensitivities of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* to Nd:YAG Laser Irradiation Through Dentin. *Lasers Surg Med.* 2000;26(3):250-61.
- Nair PNR. Falhas endodônticas: a patologia da periodontite apical pós-tratamento. In: Cohen S, Hargreaves KM. *Caminhos da polpa.* 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p. 918-943.
- Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 1990;16(12):580-8.

Noguchi N, Noiri Y, Narimatsu M, Ebisu S. Identification and localization of extracellular biofilm-forming bacteria associated with refractory endodontic pathogens. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(12):8738-43.

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

Paiva JG, Antoniazzi JH. *Endodontia: bases para pratica clínica*. 2ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1991.

Pashley DH. Clinical considerations of microleakage. *J Endod*. 1990;16(2):70-7.

Pashley EL, Tao L, Pashley DH. Sterilization of human teeth: its effect on permeability and bond strength. *Am J Dent*. 1993;6(4):189-91.

Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*. 2001;34(6):429-34.

Porteiner I, Waltimo TMT, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*– the root canal survivor and 'star' in post-treatment disease. *Endod Topics*. 2003;6(1):135-59.

Rainwater A, Jeansonne BG, Sarkar N. Effects of Ultrasonic Root-End Preparation on Microcrack Formation and Leakage. *J Endod*. 2000;26(2):72-5.

Roy CO, Jeansonne BG, Gerrets TF. Effect of an Acid Environment on Leakage of Root-End Filling Materials. *J Endod*. 2001;27(1):7-8.

Santos C, Sousa-Neto MD, Alfredo E, Guerisoli DM, Pecora JD, Comelli Lia RF. Morphologic Evaluation of the Radicular Dentine Irradiated with Nd:YAG Laser Under Different Parameters and Angles of Incidence. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(5):590-5.

Scheerer SQ, Steiman HR, Cohen J. A Comparative Evaluation of Three Root-End Filling Materials: An In Vitro Leakage Study Using *Prevotella nigrescens*. *J Endod*. 2001;27(1):40-2.

Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelic N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. *Lasers Surg Med.* 2004;35(2):111-6.

Sen BH, Safavi KE, Spångberg LS. Colonization of *Candida albicans* on cleaned human dental hard tissues. *Arch Oral Biol.* 1997;42(7):513-20.

Siqueira JF Jr, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(5):632-41.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Abad EC, Castro AJ, Gahyva SM, Favieri A. Ability of Three Root-End Filling Materials to Prevent Bacterial Leakage. *J Endod.* 2001;27(11):673-5.

Souza EB, de Amorim CV, Lage-Marques JL. Effect of diode laser irradiation on the apical sealing of MTA retrofillings. *Braz Oral Res.* 2006;20(3):231-4.

Stabholz A, Khayat A, Weeks DA, Neev J, Torabinejad M. Scanning electron microscopic study of the apical dentine surfaces lased with ND:YAG laser following apicectomy and retrofill. *Int Endod J.* 1992a;25(6):288-91.

Stabholz A, Khayat A, Ravanshad SH, McCarthy DW, Neev J, Torabinejad M. Effects of Nd:YAG Laser on Apical Seal of Teeth after Apicoectomy and Retrofill. *J Endod.* 1992b;18(8):371-5.

Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, Tronstad L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod.* 2002;28(4):304-10.

Tanomaru Filho M, Figueiredo FA, Tanomaru JM. Effect of different dye solutions on the evaluation of the sealing ability of mineral trioxide aggregate. *Braz Oral Res.* 2005;19(2):119-22.

Testori T, Capelli M, Milani S, Weinstein RL. Success and failure in periradicular surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;87(4):493-8.

Tobón-Arroyave SI, Restrepo-Pérez MM, Arismendi-Echavarría JA, Velásquez-Restrepo Z, Marín-Botero ML, García-Dorado EC. Ex vivo microscopic assessment of factors affecting the quality of apical seal created by root-end fillings. *Int Endod J.* 2007;40(8):590-602.

Torabinejad M, Ford TR, Abedi HR, Kariyawasam SP, Tang HM. Tissue Reaction to Implanted Root-End Filling Materials in the Tibia and Mandible of Guinea Pigs. *J Endod.* 1998;24(7):468-71.

Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ, Pitt Ford TR. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod.* 1994;20(4):159-63.

Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and Chemical Properties of a New Root-End Filling Material. *J Endod.* 1995a;21(7):349-53.

Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial Effects of Some Root End Filling Materials. *J Endod.* 1995b;21(8):403-6.

Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic Assessment of Mineral Trioxide Aggregate as a Root-End Filling in Monkeys. *J Endod.* 1997;23(4):225-8.

Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial Leakage of Mineral Trioxide Aggregate as a Root-End Filling Material. *J Endod.* 1995c;21(3):109-12.

Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative Investigation of Marginal Adaptation of Mineral Trioxide Aggregate and Other Commonly Used Root-End Filling Materials. *J Endod.* 1995d;21(6):295-9.

Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod.* 1993;19(12):591-5.

Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(2):73-7.

Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. *Endod Dent Traumatol.* 1987;3(2):86-90.

Valois CR, Costa ED Jr. Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end fillings in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):108-11.

Vogt BF, Xavier CB, Demarco FF, Padilha MS. Dentin penetrability evaluation of three different dyes in root-end cavities filled with mineral trioxide aggregate (MTA). *Braz Oral Res.* 2006;20(2):132-6.

von Arx T, Jensen SS, Hänni S. Clinical and radiographic assessment of various predictors for healing outcome 1 year after periapical surgery. *J Endod.* 2007;33(2):123-8.

Wallace JA. Effect of Waterlase laser retrograde root-end cavity preparation on the integrity of root apices of extracted teeth as demonstrated by light microscopy. *Aust Endod J.* 2006;32(1):35-9.

Waltimo TMT, Sirén EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30(2):96-101.

White JM, Goodis HE, Marshall SJ, Marshall GW. Sterilization of Teeth by Gamma Radiation. *J Dent Res.* 1994;73(9):1560-7.

Winik R, Araki AT, Negrão JA, Bello-Silva MS, Lage-Marques JL. Sealer Penetration and Marginal Permeability after Apicoectomy Varying Retrocavity Preparation and Retrofilling Material. *Braz Dent J.* 2006;17(4):323-7.

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

Wu MK, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Decoloration of 1% methylene blue solution in contact with dental filling materials. *J Dent.* 1998;26(7):585-9.

Wuchenich G, Meadows D, Torabinejad M. A Comparison between Two Root End Preparation Techniques in Human Cadavers. *J Endod.* 1994;20(6):279-82.

Xavier CB, Weismann R, de Oliveira MG, Demarco FF, Pozza DH. Root-End Filling Materials: Apical Microleakage and Marginal Adaptation. *J Endod.* 2005;31(7):539-42.

Yamazaki R, Goya C, Yu DG, Kimura Y, Matsumoto K. Effects of Erbium,Chromium:YSGG Laser Irradiation on Root Canal Walls: A Scanning Electron Microscopic and Thermographic Study. *J Endod.* 2001;27(1):9-12.

Yu JT, Wang XD, Bao MR, Yan L. Research on the effect of root canal seal achieved by irradiation of Er, Cr:YSGG laser. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2004;13(1):27-9.

ANEXO A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP (CEP-FOUSP)



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**PARECER DE APROVAÇÃO**  
**Protocolo 66/07**

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Influência do Tratamento Apical com Lasers de Alta Potência na Microinfiltração Bacteriana e Fúngica de Obturações Retrógradas**", de responsabilidade do Pesquisador **Carmo Antonio Aun**, sob orientação do(a) Professor(a) Doutor(a) **Giulio Gavini**.

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

São Paulo, 11 de junho de 2007

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

## ANEXO B – Certificado de Irradiação de produto com raio gama

**CERTIFICADO DE IRRADIAÇÃO DE PRODUTO****Nº : CTR-CI-FO-003/06**

O CENTRO DE TECNOLOGIA DAS RADIAÇÕES (CTR) do INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES – IPEN certifica que os produtos abaixo relacionados e solicitado por meio de correspondência da Faculdade de Odontologia, FO-USP, datado de 20 de julho de 2006, foram tratados de 21 a 25/07/2006 por radiação gama (Cobalto-60) no irradiador multipropósito e receberam a dose mínima de 20,7 kGy.

Relação de produtos:

- 12 dentes humanos obturados e colados em tubos de poliestireno com metilcianocrilato (superbonder). Estudo do aluno Carmo Antônio aun sob orientação do prof. Dr. Giulio Gavini (Endodontia – Departamento de Dentística – FO-USP).

Emitido por

MSc. Yasko Kodama

CTRD

Data: 27/07/06

Revisado por

Dr. Paulo Roberto Rela

CTRD

Data: 27/07/06

## ANEXO C – Formulas e métodos de preparo dos meios de cultura microbiana

**Tryptic soy broth (TSB)**

Fórmula (g/L), pH final = 7,3 +/- 0,2 a 25 °C

Bacto tryptone..... 17 g

Bacto soytone.....3 g

Bacto dextrose.....2,5 g

Cloreto de sódio.....5 g

Fosfato dipotássico.....2,5 g

Em balança analítica será pesado 30 g de TSB pó e colocado em Erlenmeyer acrescido de 1000 mL de água destilada. A mistura será hidratada por 10 a 15 minutos. Com o auxílio de um bastão de vidro será dissolvido o pó completamente. O frasco será fechado e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 15 minutos. O caldo será armazenado em vidro com tampa plástica rosqueável resistente a vapor, ambos esterilizados.

**Tryptic soy agar (TSA)**

Fórmula (g/L), pH final = 7,3 +/- 0,2 a 25 °C

Bacto tryptone.....15 g

Bacto soytone.....5 g

Cloreto de sódio.....5 g

Bacto – agar.....15 g

Em balança analítica, serão pesados 40,0 g de TSA, que serão colocados em Erlenmeyer acrescido de 1000 mL de água destilada, e deixado hidratar por 10 a 15 minutos. Com o auxílio de um bastão de vidro será dissolvido o pó completamente. O frasco será fechado e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 15 minutos. Em seguida, serão distribuídos em placas de Petri.

**Ethyl Violet Azide (EVA)**

Fórmula (g/L), pH fina l= 7,0 +/- 0,2 a 25 °C

**Formula****Difco™ EVA Broth**

Approximate Formula\* Per Liter

Proteose Peptone No. 3 .....	8.0	g
Pancreatic Digest of Casein .....	12.0	g
Dextrose .....	5.0	g
Dipotassium Phosphate .....	2.7	g
Monopotassium Phosphate .....	2.7	g
Sodium Chloride .....	5.0	g
Sodium Azide .....	0.4	g
Ethyl Violet .....	0.83	mg

\*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance criteria.

Em balança analítica será pesado 35,8 g de EVA pó e colocado em Erlenmeyer acrescido de 1000 mL de água destilada. A mistura será hidratada por 10 a 15 minutos. Com o auxílio de um bastão de vidro será dissolvido o pó completamente. O frasco será fechado e esterilizado em autoclave a 121 °C, por 15 minutos. O caldo será armazenado em vidro com tampa plástica rosqueável resistente a vapor, ambos esterilizados.