

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA CONSERVADORA

TAIANE CORRÊA FURTADO

**PENETRAÇÃO INTRATUBULAR DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS À BASE DE
SILICATO DE CÁLCIO E RESINA EPÓXICA ASSOCIADOS À DOIS
FLUORÓFOROS: ESTUDO EM MICROSCOPIA ELETRONICA CONFOCAL A
LASER (MCL)**

Porto Alegre

2019

TAIANE CORRÊA FURTADO

**PENETRAÇÃO INTRATUBULAR DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS À BASE DE
SILICATO DE CÁLCIO E RESINA EPÓXICA ASSOCIADOS À DOIS
FLUORÓFOROS: ESTUDO EM MICROSCOPIA ELETRONICA CONFOCAL A
LASER (MCL)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Ricardo Abreu da Rosa

Porto Alegre

2019

TAIANE CORRÊA FURTADO

**PENETRAÇÃO INTRATUBULAR DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS À BASE DE
SILICATO DE CÁLCIO E RESINA EPÓXICA ASSOCIADOS À DOIS
FLUORÓFOROS: ESTUDO EM MICROSCOPIA ELETRONICA CONFOCAL A
LASER (MCL)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Odontologia da
Faculdade de Odontologia da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul, como requisito
parcial para obtenção do título de Cirurgião-
Dentista.

Orientador: Ricardo Abreu da Rosa

Porto Alegre, 12 de Julho de 2019.

Ricardo Abreu da Rosa

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Marcus Vinícius Reis Só

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Tiago André Fontoura de Melo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Antonio e Sinara, por todo apoio e confiança que me foi dado durante esses anos em que estive na faculdade de odontologia da UFRGS, por sempre acreditarem em mim e nunca medirem esforços para verem meus sonhos serem realizados. Sou muito grata a vocês e sempre serei.

A todo o resto da minha família que sempre esteve ao meu lado, me incentivando e torcendo por mim, nos momentos bons e nos ruins. Obrigada por entenderem quando não pude estar presente e por sempre tornarem nossos momentos juntos inesquecíveis.

Agradeço ao meu orientador Ricardo, que sempre esteve disposto a sanar minhas dúvidas, confiou no meu trabalho e me ensinou muito durante os semestres em que estivemos trabalhando juntos.

Gostaria também, de agradecer a banca: professores Tiago e Marcos Só, por aceitarem o convite e desta maneira, contribuir com este trabalho através de suas considerações e por participarem deste momento tão importante e marcante da minha formação.

A professora Márcia Cançado por todo apoio que me deu desde o começo da graduação, pelos trabalhos, congressos, viagens e momentos divididos.

A minha melhor amiga Helen, por passar anos me ouvindo falar de dentes sem nunca reclamar, por estar ao meu lado desde o principio. Nossa amizade sempre será minha base.

Agradeço também a minha colega, amiga e mãe do coração Aline, que me adotou desde o primeiro semestre. Enfrentamos todos os obstáculos desta graduação juntas, sinto muito orgulho disso, espero superar muitos outros contigo durante nossas vidas.

As minhas amigas da faculdade, hoje já cirurgiãs-dentistas, que apesar de separadas por alguns semestres nunca deixaram de se fazer presentes da minha vida. Sem a amizade, ajuda e apoio de vocês eu não teria chegado até aqui.

E por fim, as novas amigas que criei no Ato 2019/01, turma que me acolheu e me fez sentir parte de um grupo de amigos novamente. Nossos momentos juntos tornaram essa jornada mais leve e prazerosa e sou muito grata a vocês por isso.

RESUMO

O estudo tem como objetivo avaliar a penetração intratubular de quatro cimentos endodônticos, dois à base de resina epóxica (AH Plus e Sealer Plus) e dois à base de silicato de cálcio (Endosequence e Sealer Plus BC) utilizando dois fluoróforos (Rodamina B e Fluo-3) para análise em microscopia eletrônica confocal a laser. Os canais de 80 dentes bovinos monorradiculares foram preparados manualmente pela técnica ápice coroa até um instrumento tipo K #80 e irrigados com hipoclorito de sódio 2,5%. As raízes foram distribuídas aleatoriamente em 8 grupos (n=10) de acordo com o cimento e o fluoróforo utilizados: AH Plus/Rodamina, AH Plus/Fluo-3, Sealer Plus/Rodamina, Sealer Plus/Fluo-3, Sealer Plus BC/Rodamina, Sealer Plus BC/, Endosequence/Rodamina, e Endosequence/Fluo-3. Todas as amostras foram obturadas pela técnica de condensação lateral. Após 7 dias, as raízes foram seccionadas transversalmente e 3 fatias de aproximadamente 2 mm cada foram obtidas, uma de cada terço do canal (apical, médio e cervical). A penetração intratubular de cada um dos cimentos associada aos fluoróforos foram avaliadas em microscopia eletrônica confocal a laser. Sealer Plus BC/Rodamina e Endosequence/Rodamina apresentaram maiores valores de penetração intratubular em comparação com AH Plus/Fluo-3 e Sealer Plus/Fluo-3 ($P < 0,05$). A penetração intratubular permanece constante ($P > 0,05$), independente do terço radicular, exceto para a porção apical dos grupos AH Plus/Fluo-3 e Sealer Plus BC/Fluo-3. O tipo de fluoróforo influencia a penetração intratubular dos cimentos à base de silicato de cálcio mas não dos cimentos à base de resina epóxica. Cimentos biocerâmicos não devem ser utilizados em associação com rodamina.

Palavras-chave: Endodontia. Rodamina. Fluo-3. Cimentos endodônticos. Microscopia eletrônica confocal a laser.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the intratubular penetration of four endodontic sealers, two epoxy resin-based (AH Plus and Sealer Plus) and two calcium silicate-based sealers (Endosequence and Sealer Plus BC), using two fluorophores (Rhodamine B and Fluo-3) through confocal laser scanning microscopy. Eighty bovine teeth were prepared using K files up to a size #70 and irrigated with 2.5% sodium hypochlorite. All roots were divided into eight groups (n=10) according to the sealer and the fluorophore used: AH Plus/Rhodamine, AH Plus/Fluo-3, Sealer Plus/Rhodamine, Sealer Plus/Fluo-3, Sealer Plus BC/Rhodamine, Sealer Plus BC/Fluo-3, Endosequence/Rhodamine, and Endosequence/Fluo-3. All roots were filled using cold lateral compaction technique. After 7 days the roots were transversely sectioned and three slices of 2 mm thick were obtained. One of each canal third (apical, middle and cervical). Intratubular penetration were evaluated using confocal laser scanning microscopy. Sealer Plus BC/Rhodamine and Endosequence/Rhodamine presented higher intratubular penetration than AH Plus/Fluo-3 and Sealer Plus/Fluo-3 ($P < 0.05$). The intratubular penetration was similar regardless of the root third, except for apical portion in AH Plus/Fluo-3 and Sealer Plus BC/Fluo-3 groups. The type of fluorophore influences the intratubular penetration of calcium silicate-based sealers but not of epoxy resin-based ones. Bioceramic sealers should not be used associated to rhodamine B.

Key-words: Endodontics. Rhodamine. Fluo-3. Endodontic sealers. Confocal laser scanning microscopy.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	7
2	OBJETIVOS	10
2.1	OBJETIVO GERAL	10
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
3	MATERIAIS E MÉTODOS	11
3.1	CÁLCULO AMOSTRAL.....	11
3.2	SELEÇÃO DA AMOSTRA, PREPARO DOS CANAIS E OBTURAÇÃO	11
3.3	ANÁLISE DE PENETRAÇÃO INTRATUBULAR.....	12
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	13
4	RESULTADOS	14
5	DISCUSSÃO	18
6	CONCLUSÃO	21
	REFERÊNCIAS	22
	ANEXO A – APROVAÇÃO COMPESQ	25

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A obturação do sistema de canais radiculares consiste no preenchimento do canal principal e suas ramificações com um material antisséptico, biologicamente compatível ou inerte, que, preferencialmente, estimule o processo de reparo apical e periapical (CAMÕES *et al.*, 2007; LEONARDO; TOLEDO, 2005; PINHEIRO; BRAMANTE; HUSSNE, 2003; RAYMUNDO *et al.*, 2005).

Um ótimo vedamento apical impede a entrada e o acúmulo de fluidos teciduais no interior do canal, a degradação de seus produtos para os tecidos perirradiculares e a infiltração de microrganismos (HAMMAD; QUALTROUGH; SILIKAS, 2009). Estudos indicam que o insucesso endodôntico está relacionado com a presença de microrganismos no interior do canal radicular e tecidos periapicais após a obturação (VANNI *et al.*, 2007).

Os cimentos endodônticos à base de resina epóxica apresentam propriedades físico-químicas adequadas, tais como: tempo de trabalho apropriado, boa fluidez, baixa viscosidade, adequado tamanho de partícula e pH, e baixa tensão superficial (MARTIN-BAUZA *et al.*, 2010). A camada de cimento deve ser fina, homogênea e contínua para alcançar grande capacidade de selamento (DEUS *et al.*, 2003).

O AH Plus (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) consiste em um cimento a base de resina-epóxica considerado como padrão ouro devido as suas propriedades físico químicas e biológicas (ALMEIDA *et al.*, 2017; KHALIL *et al.*, 2016), incluindo estabilidade dimensional a longo prazo, fluidez, biocompatibilidade e resistência de união à dentina (ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2015).

O cimento endodôntico Sealer Plus é um cimento à base de resina epóxica, porém que apresenta hidróxido de cálcio em sua composição, tornando-o menos citotóxico, ou seja, mais biocompatível. Além disso, o Sealer Plus exhibe propriedades físico-químicas que preenchem os requisitos das normas ANSI/ADA e a ISO6876, além de boa solubilidade e pH (PIAI *et al.*, 2018).

Já os cimentos biocerâmicos, à base de silicato de cálcio, foram desenvolvidos como uma alternativa aos cimentos endodônticos já existentes. Sua composição pode apresentar alumínio, zircônia, vidro bioativo, cerâmicas de vidro e hidroxiapatita (UTNEJA *et al.*, 2015). Os cimentos à base de silicato de cálcio possuem um pH alcalino (em torno de 10), atividade antimicrobiana e biocompatibilidade (MENDES *et al.*, 2018). Durante o processo de presa apresenta capacidade de formar hidroxiapatita e se ligar quimicamente à dentina radicular (CANDEIRO *et al.*, 2012). De acordo com uma revisão sistemática recente que comparou as

propriedades físico-químicas e biológicas dos cimentos biocerâmicos e dos cimentos convencionais, os resultados para os cimentos à base de silicato de cálcio foram similares ou melhores quando analisados estudos *in vitro* ou *in vivo* utilizando animais (ALMEIDA *et al.*, 2017).

O Sealer Plus BC (MK Life, Porto Alegre, RS, Brasil) é um cimento biocerâmico, à base de silicato de cálcio, desenvolvido não só para a obturação dos canais radiculares, mas também para selamento de perfurações radiculares, tratamentos conservadores pulpares e como material retrobturador. De acordo com o fabricante, é um cimento insolúvel, radiopaco, sem alumínio e contém silicato de cálcio, que exige a presença de umidade para tomar presa. Segundo Mendes *et al.* (2018) apresenta pH e liberação de cálcio superiores ao AH Plus, porém valores inferiores de escoamento, radiopacidade e solubilidade.

Endosequence BC Sealer é um cimento biocerâmico composto por fosfato de cálcio, silicato de cálcio, hidróxido de cálcio, óxido de zircônio e agentes espessantes. É um produto hidrofílico pré-misturado, injetável, que utiliza a umidade presente nos túbulos dentinários para tomar presa. Tanto o cimento Sealer Plus BC quanto o Endosequence apresentam expansão higroscópica, resultando em uma excelente adaptação às paredes do canal e melhor selamento marginal (BARUAH *et al.*, 2018; DEBAJ *et al.*, 2018).

Existem vários métodos para a avaliação do selamento do canal radicular e diferentes indicadores para rastrear a profundidade ou a área de penetração dos cimentos endodônticos nos túbulos dentinários. A utilização de fluoróforos associados aos cimentos endodônticos para posterior análise em MCL consiste no método mais acessível e confiável para avaliação deste desfecho (BALGUERIE, 2011; DEUS *et al.*, 2004; MOON *et al.*, 2010; WEIS; PARASHOS; MESSER, 2004). Normalmente, o fluoróforo utilizado para avaliar a penetração intratubular e adaptação interfacial de cimentos como o AH Plus, através da microscopia eletrônica confocal a laser (MCL), é a Rodamina B.

A Rodamina B (Hexis, Jundiaí, Brasil) é um corante básico intenso, solúvel em água à temperatura ambiente, solúvel em álcoois, além de ser altamente estável. Quando diluída, é capaz de produzir fluorescência (OHLWEILER, 1974; VOGEL, 1981). É frequentemente usada por apresentar moléculas pequenas que permitem boa penetrabilidade (TANOMARU FILHO; JORGE; TANOMARU, 2006).

O Fluo-3 (Invitrogen, Carlsbad, EUA) é um indicador fluorescente, altamente sensível para a medição do fluxo de cálcio nas células, adequado para rastrear a penetração de cimentos à base de silicato de cálcio nos túbulos dentinários (JEONG *et al.*, 2017).

O fluoróforo padrão para marcação de cimentos à base de resina epóxica é a Rodamina B. Entretanto, devido à solubilidade da Rodamina B em água, parece pertinente verificar seu comportamento associado à cimentos biocerâmicos, uma vez que necessitam de umidade no canal radicular para tomarem presa. Nestes casos, pode ser que resultados falso-positivos de penetração intratubular ocorram, ou seja, o corante seria levado no interior dos túbulos pela água presente no canal radicular não significando necessariamente a presença do cimento nestas regiões. Por outro lado, parece pertinente investigar se o fluoróforo preconizado para utilização junto aos cimentos biocerâmicos (Fluo-3) pode também ser utilizado associado aos cimentos à base de resina epóxica, uma vez que estes apresentam tungstato de cálcio como agente radiopacificador e o cálcio se faz necessário para ligação com o Fluo-3. Contudo, até o presente momento, não se conhece o comportamento dos cimentos à base de silicato de cálcio associados à Rodamina B tampouco dos cimentos à base de resina epóxica associados ao Fluo-3.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar, através de MCL, a penetração intratubular de dois cimentos à base de resina epóxica (AH Plus e Sealer Plus) e dois cimentos à base de silicato de cálcio (Endosequence e Sealer Plus BC) associados à dois fluoróforos (rodamina B e Fluo-3).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar a área de penetração intratubular dos cimentos à base de resina epóxica (AH Plus e Sealer Plus) associados à Rodamina B e ao Fluo-3 utilizando MCL;
- b) Verificar a área de penetração intratubular dos cimentos à base de silicato de cálcio (Endosequence e Sealer Plus BC) associados à Rodamina B e ao Fluo-3 utilizando MCL;
- c) Comparar a penetração intratubular de cada classe de cimento endodôntico (à base de resina epóxica e de silicato de cálcio) com cada um dos corantes testados (Rodamina B e Fluo3);
- d) Comparar dentro de cada grupo, a influência dos terços radiculares (apical, médio e cervical) na penetração intratubular dos cimentos endodônticos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CÁLCULO AMOSTRAL

O tamanho da amostra foi obtido a partir de um estudo piloto com os seguintes parâmetros: diferença mínima detectável entre as médias dos tratamentos de 0,5, desvio padrão do erro de 0,31, poder do teste de 80% com nível de significância de 5%. Portanto, o número mínimo do tamanho da amostra foi de dez espécimes por grupo para análise em microscopia eletrônica confocal a laser. Para o cálculo do tamanho da amostra foi utilizado o software BioEstat 4.0 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, AM, Brasil).

3.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA, PREPARO DOS CANAIS E OBTURAÇÃO

Oitenta dentes bovinos monorradiculares foram utilizados neste estudo. Os critérios de inclusão foram: dentes com um único canal, reto e com formação radicular completa, sem calcificações, diâmetro apical anatômico equivalente a um instrumento tipo K #45 (Dentsply Sirona, Ballaigues, Switzerland). Foram excluídas as raízes que apresentavam: a) comprimento de raiz inferior a 15 mm; b) fraturas ou trincas radiculares, detectadas através de exame visual e, também, com auxílio de lupa de aumento 100x.

Para a remoção dos remanescentes de tecido ósseo, de tecido gengival e de ligamento periodontal foram utilizadas curetas periodontais do tipo Gracey, nº 3 e 4 (Neumar Instrumentos Cirúrgicos Ltda, São Paulo - SP). Todos os dentes utilizados neste estudo foram armazenados em solução de timol 0,1%. Após lavagem em água corrente para remoção da solução de timol 0,1%, as raízes foram seccionadas transversalmente com disco diamantado sob constante irrigação de modo a padronizar o comprimento das raízes em 15 mm.

Os canais foram irrigados com 2 ml de solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5% e o comprimento de trabalho estabelecido pela penetração de uma lima tipo K #40 (Dentsply Sirona) introduzida passivamente até atingir o forame apical para que então esta medida seja reduzida em 1 mm e o comprimento de trabalho (CT) estabelecido. Preparo químico-mecânico dos canais radiculares foi realizado pela técnica ápice-coroa com instrumentos manuais tipo K até a lima #80. Depois do uso de cada instrumento, os canais foram irrigados com 2 ml de NaOCl 2,5%. Após preparo, os canais foram irrigados com 5 ml de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 17% por 3 min para remoção da lama dentinária e irrigado,

por fim, com 10 ml de água destilada. A secagem dos canais foi realizada com cones de papel absorvente #80 (Dentsply Sirona). Cones de guta percha #80 (Dentsply Sirona) foram testados no CT para verificar sua adaptação no batente apical e confirmado radiograficamente.

Os espécimes foram divididos em 8 grupos experimentais de acordo com o cimento endodôntico e o tipo de fluoróforo utilizado (n = 10): AH Plus/Rodamina, AH Plus/Fluo-3, Sealer Plus/Rodamina, Sealer Plus/Fluo-3, Sealer Plus BC/Rodamina, Sealer Plus BC/, Endosequence/Rodamina, e Endosequence/Fluo-3.

Cada um dos cimentos foi então preparado de acordo com as especificações dos respectivos fabricantes, manipulados juntamente com o respectivo fluoróforo, na proporção de 0,1% para permitir a visualização em MCL. Os cimentos foram inseridos no canal utilizando os cones de guta percha principais e acessórios.

Em seguida, os cones de guta percha #80 foram inseridos no CT e a obturação realizada pela técnica de condensação lateral com espaçadores bidigitais C (Dentsply Sirona) posicionados 2 mm aquém do CT e posterior inserção de cones de guta percha acessórios FM (Dentsply Sirona) até completo preenchimento dos canais. Após confirmação radiográfica, os excessos de materiais foram removidos com instrumento aquecido e condensado verticalmente com calcadores de digitopalmares. Por fim, foi realizado o selamento coronário com cimento provisório.

As amostras foram armazenadas a 37°C e umidade de 100% por 7 dias. As raízes foram inicialmente fixadas em uma base metálica da máquina de corte (LabCut 1010, Extec Corp, Enfield, CT, EUA). Em seguida, foram seccionadas transversalmente com disco diamantado sob constante refrigeração (2 mm ± 0,2 mm), obtendo-se três fatias por espécime, sendo uma fatia para cada terço radicular.

3.3 ANÁLISE DA PENETRAÇÃO INTRATUBULAR

As fatias obtidas a partir dos dentes obturados, com cimento e corante, foram polidas com tiras de lixa de granulação decrescente até 1200 e discos de feltro com pasta específica (Arotec, Cotia, SP, Brasil). Por fim, as amostras foram lavadas com água destilada para remover detritos oriundos do polimento.

A análise da penetração intratubular foi realizada através da MCL (Olympus Corporation, Tokyo, Japão). Os comprimentos de onda para absorção e emissão para rodamina B foi de 540 nm e 494 nm, respectivamente. Os comprimentos de onda para absorção e emissão para o Fluo-3 foi de 506 nm e 526 nm, respectivamente.

A área de penetração intratubular foi gerada pelas imagens obtidas no programa FluoView 10-ASW 4.2 (Olympus Corporation, Tóquio, Japão) com magnificação de 10×. Tais imagens foram analisadas, então, utilizando o programa Adobe Photoshop CC2018. Inicialmente, uma medição da quantidade de pixels de toda a área da imagem foi realizada, esta era considerada a área total da imagem. Em um segundo momento, o perímetro do canal era mensurado e subtraído da imagem total. Neste caso, foi possível obter a área, em pixels, de dentina passível de ser impregnada pelo cimento. Por fim, as regiões de dentina em que havia cimento endodôntico era marcada automaticamente pelo programa e uma regra de três simples era realizada.

Área passível de ser impregnada	-----	100%
Área impregnada pelo cimento	-----	X

Todas as análises foram realizadas por um examinador cegado e calibrado para os tratamentos através de duas leituras com intervalo de 72 horas entre elas.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste Kappa intra-examinador foi realizado para analisar sua capacidade diagnóstica nos dois períodos de análise. Teste de Shapiro-Wilk foi realizado para avaliar o padrão de distribuição dos dados, indicando normalidade na distribuição dos mesmos. Nesse sentido, foram conduzidos os testes ANOVA dois fatores e post hoc de Tukey para comparar os grupos experimentais tendo como fatores o tipo de cimento endodôntico e o corante utilizado. Para análise intragrupo, comparando os terços do canal radicular, foi realizado o teste ANOVA 1 fator e post hoc de Tukey. Para todos os testes estatísticos realizados no presente estudo o nível de significância foi estabelecido em 5%.

4 RESULTADOS

Os valores de penetração intratubular dos cimentos endodônticos associados aos fluoróforos testados estão expressos na Tabela 1. Os maiores valores médios de penetração intratubular foram obtidos nos grupos Sealer Plus BC/Rodamina B (93,16%) e Endosequence/Rodamina B (93,72%) sendo estatisticamente diferentes daqueles observados nos grupos que utilizaram o fluoróforo Fluo-3 ($P < 0,05$). Os cimentos à base de resina epóxica associados à rodamina apresentaram valores intermediários de penetração intratubular ($P > 0,05$).

O fluoróforo utilizado para marcar os cimentos à base de silicato de cálcio influencia de maneira significativa a penetração intratubular destes cimentos ($P < 0,05$). Por outro lado, os cimentos à base de resina epóxica não são influenciados pelo fluoróforo utilizado para marcar sua penetração intratubular ($P > 0,05$). Os cimentos endodônticos marcados com o Fluo-3 apresentaram similar penetração intratubular ($P > 0,05$).

Quando avaliada a área de dentina impregnada de acordo com cada um dos terços radiculares, os cimentos à base de silicato de cálcio apresentaram os maiores valores quando associados com a rodamina ($P < 0,05$), independentemente do terço radicular avaliado.

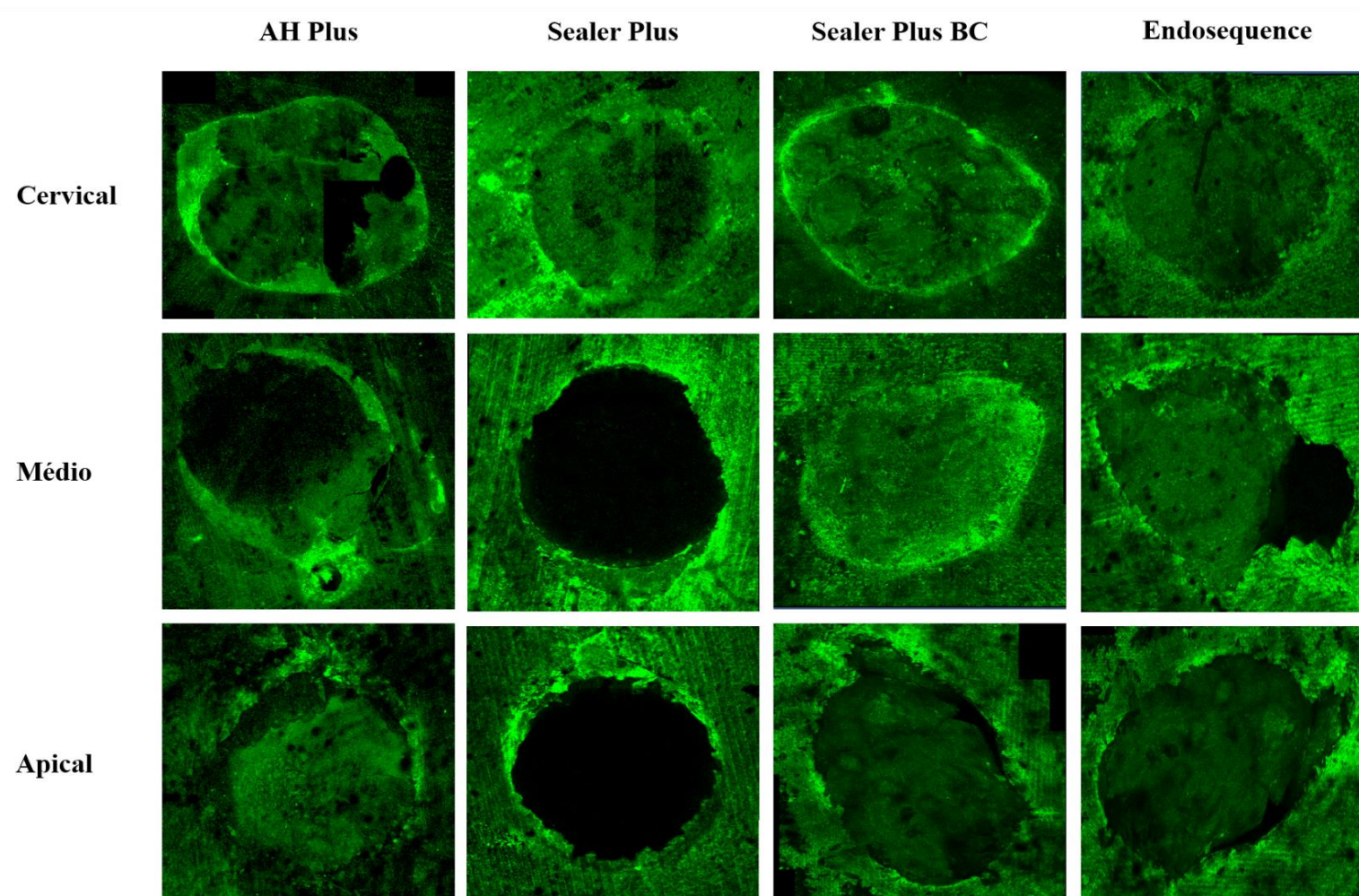
A penetração nos túbulos dentinários não foi dependente do terço radicular ($P > 0,05$), exceto para os grupos AH Plus/Fluo-3 e Sealer Plus BC/Fluo-3 ($P < 0,05$). Nestes casos, a área de dentina impregnada foi inferior para o terço apical do canal radicular, em comparação com os terços médio e cervical. As Figuras 1 e 2 mostram a penetração intratubular dos cimentos testados associados ao Fluo-3 e à Rodamina B, respectivamente.

Tabela 1 – Valores de penetração intratubular (% \pm desvio padrão) dos cimentos endodônticos associados aos fluoróforos testados de acordo com cada terço radicular

	Cimentos à base de resina epóxica				Cimentos à base de silicato de cálcio			
	AH Plus Rodamina B	AH Plus Fluo-3	Sealer Plus Rodamina B	Sealer Plus Fluo-3	Sealer Plus BC Rodamina B	Sealer Plus BC Fluo-3	Endosequence Rodamina B	Endosequence Fluo-3
Apical	85.49 \pm 15.05 Ba	66.97 \pm 15.38 Cb	82.93 \pm 4.52 Ba	71.46 \pm 15.84 Ba	92.52 \pm 4.87 Aa	67.46 \pm 4.29 Cb	93.59 \pm 2.19 Aa	69.77 \pm 7.60 Ca
Médio	88.97 \pm 12.27 Ba	76.59 \pm 10.85 Ba	85.23 \pm 7.35 Ba	79.82 \pm 11.68 Ba	91.80 \pm 3.50 Aa	80.42 \pm 11.31 Ba	92.06 \pm 2.66 Aa	78.75 \pm 8.88 Ba
Cervical	90.25 \pm 14.74 Aa	78.80 \pm 10.75 Ba	78.60 \pm 12.53 Ba	75.7 \pm 12.34 Ba	91.67 \pm 7.38 Aa	78.96 \pm 4.53 Ba	89.68 \pm 2.66 Aa	73.72 \pm 5.45 Ba
Média	88.23 \pm 11.29 AB	73.39 \pm 8.74 B	85.98 \pm 16.26 AB	75.66 \pm 11.11 B	93.16 \pm 11.42 A	75.62 \pm 7.09 B	93.72 \pm 4.27 A	74.08 \pm 2.37 B

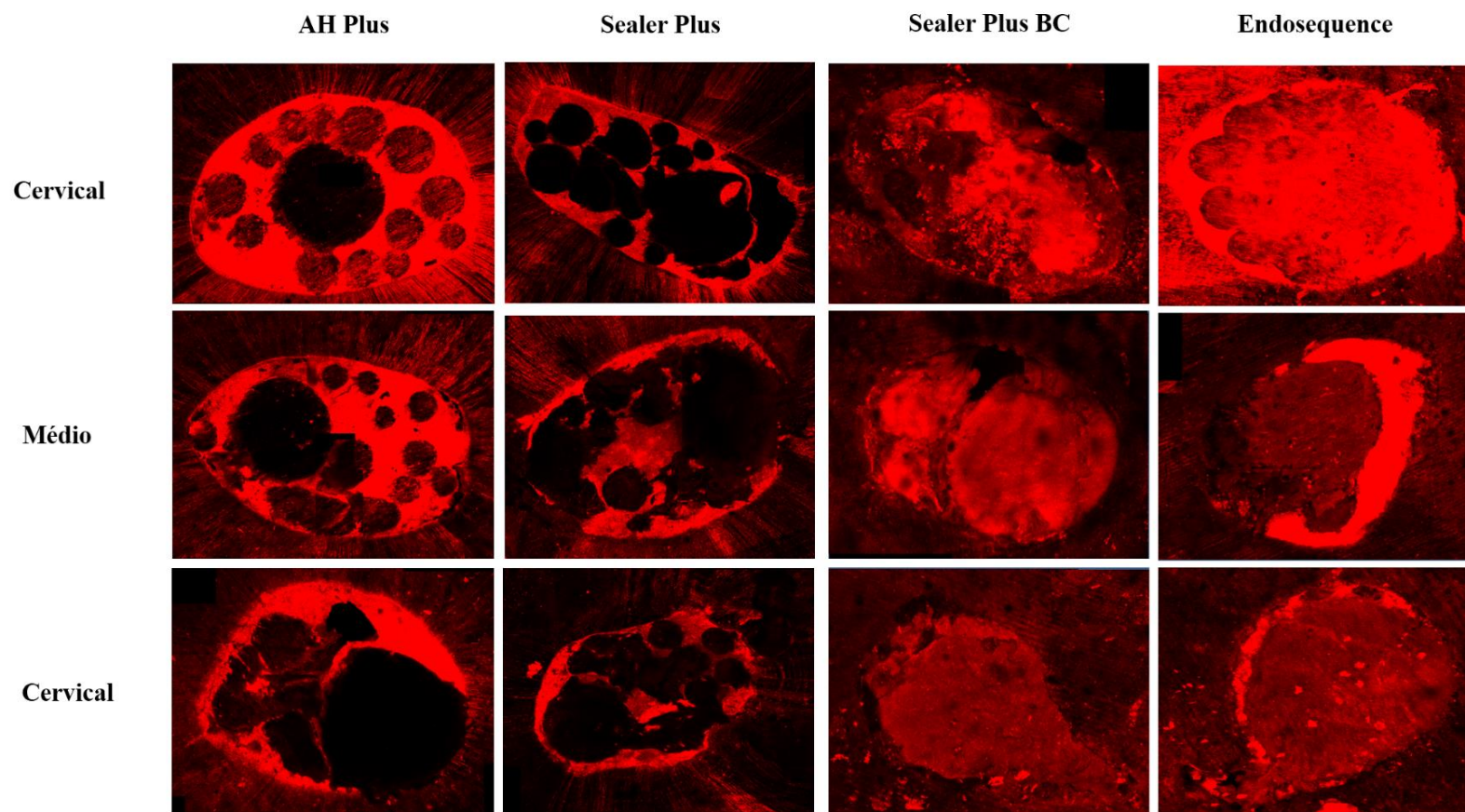
Legenda: Letras maiúsculas comparam os grupos experimentais dentro de cada terço radicular após teste ANOVA 2 fatores e post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$). Letras minúsculas comparam os terços radiculares dentro de um mesmo grupo após o teste ANOVA 1 fator e post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Figura 1 - Imagens da obturação dos canais utilizando os cimentos testados e o fluoróforo fluo-3, por terço radicular.



Fonte: O autor.

Figura 2 – Imagens da obturação dos canais utilizando os cimentos testados e o fluoróforo rodamina B, por terço radicular.



Fonte: O autor.

5 DISCUSSÃO

Para os cimentos endodônticos, o escoamento é uma propriedade físico-química de extrema importância, pois está relacionado com sua capacidade de penetrar em áreas anatômicas complexas como istmos, canas acessórios, deltas apicais e túbulos dentinários, melhorando assim a adaptação do material obturador às paredes do canal radicular. A capacidade de penetração do cimento de forma eficaz nos túbulos dentinários e sua adaptação às paredes do canal são fatores que influenciam a seleção dos materiais obturadores (CORONAS *et al.*, [2019]). Essas propriedades são importantes para um bom cimento obturador, pois os tornam capazes de alcançar áreas e microrganismos residuais que não foram acessados pelos instrumentos, pela solução irrigadora e pela própria guta-percha (PIAI *et al.*, 2018)

A MCL possibilita a avaliação da penetrabilidade e distribuição dos cimentos endodônticos nos túbulos dentinários. O sistema usa uma fonte de laser para promover a excitação de fluoróforos. Estes feixes de laser podem se difundir através da dentina, esmalte e biofilmes, detectando suas estruturas internas e formando várias imagens bidimensionais (SILVA *et al.*, 2015). Essa tecnologia fornece informações sobre a penetração e distribuição do cimento dentro dos túbulos dentinários através do uso de marcadores (fluoróforos) na forma de corantes associados com os cimentos (ARIKATLA *et al.*, 2018).

Nesse sentido, este estudo teve por objetivo avaliar a penetração intratubular de dois cimentos à base de resina epóxica (AH Plus e Sealer Plus) e dois à base de silicato de cálcio (Endosequence BC e Sealer Plus BC) utilizando dois fluoróforos (Fluo-3 e Rodamina B) através de MCL. Baseado nos presentes resultados, a primeira e a segunda hipótese nula foram rejeitadas. Houve diferenças na área de penetração intratubular apresentada pelos cimentos testados e o tipo de fluoróforo influenciou a penetrabilidade dos cimentos endodônticos.

Os maiores valores de penetração intratubular foram observados nos grupos em que foi feita associação do cimento biocerâmico com a Rodamina B ($P < 0,05$). O grupo Sealer Plus BC/Rodamina e Endosequence/Rodamina apresentaram 93,16% e 93,72% de área de dentina impregnada pelo cimento, respectivamente. Na verdade, esta área de “penetração” se deve à diluição da rodamina na água, necessária para a reação de presa dos cimentos à base de silicato de cálcio e não a uma verdadeira penetração do cimento biocerâmico nos túbulos dentinários. Quando este tipo de cimento é utilizado, os fabricantes preconizam que o canal radicular esteja úmido para que o a reação de presa do cimento ocorra. Entretanto, a

Rodamina B é um corante hidrofílico, ou seja, facilmente diluído em água. Deste modo, as áreas que supostamente eram consideradas impregnadas pelo cimento, na verdade, são apenas áreas manchadas pela Rodamina B que foi carregada pela água presente no canal radicular e nos túbulos dentinários. Portanto a associação Rodamina B e cimentos biocerâmicos leva, fatalmente, à resultados falso-positivos de penetração intratubular.

Apesar deste aspecto, inúmeros trabalhos vêm sendo publicados avaliando o comportamento dos cimentos biocerâmicos associados de maneira equivocada à Rodamina B (AL-HADDAD; ABU KASIM; CHE AB AZIZ, 2015; AYDIN *et al.*, 2019; TÜRKER; UZUNOĞLU; PURALI, 2018; WANG; LIU ; DONG, 2018).

Por isso, a utilização de um corante insolúvel em água para análise de cimentos biocerâmicos é fundamental. Nesse sentido, a utilização do Fluo-3 tem sido proposta. Este fluoróforo se torna fluorescente quando se liga aos íons cálcio. Esta ligação pode gerar uma fluorescência até 100 vezes superior à do próprio fluoróforo isolado (JEONG *et al.*, 2017). O cálcio presente nos cimentos à base de silicato de cálcio se liga ao Fluo-3 gerando a fluorescência observada na MCL. Vale ressaltar que o Fluo-3, inicialmente desenvolvido para marcar gradientes de íons cálcio intracelular ou citometria de fluxo em biologia química não é capaz de se ligar ao cálcio presente na estrutura dentária. Portanto, a fluorescência gerada por este fluoróforo deve-se exclusivamente ao cimento associado a ele (JEONG *et al.*, 2017).

No presente trabalho, o Fluo-3 associado aos cimentos à base de resina epóxica apresentou valores de penetração intratubular similares aos valores apresentados pelos mesmos cimentos associados à Rodamina B ($P > 0,05$). Este achado responde a uma das questões desta pesquisa: se o Fluo-3 poderia ser utilizado associado a cimentos à base de resina epóxica. Como tais cimentos apresentam tungstato de cálcio em sua composição, o Fluo-3 é capaz de se ligar aos íons cálcio presente neste radiopacificador, gerando a fluorescência necessária para identificação nas análises de MCL. Portanto, quando se deseja comparar cimentos de resina epóxica e de silicato de cálcio tendo como desfecho a penetração intratubular através de MCL, o fluoróforo Fluo-3 deve ser utilizado para ambos os cimentos. Jeong *et al.* (2017) foi o primeiro a publicar um trabalho e discutir aspectos relacionados à influência do tipo de fluoróforo nas análises em MCL de cimentos endodônticos. Recentemente, Coronas publicou, em sua Dissertação de Mestrado, uma avaliação de diferentes formas de agitação do cimento biocerâmico utilizando como marcador o Fluo-3. Contudo, até o presente momento, apenas estudo avaliou metodologicamente o desempenho deste corante associado a diferentes tipos de cimentos endodônticos e seu desempenho em comparação com a Rodamina B, amplamente utilizada para este fim.

Os cimentos à base de resina epóxica quando associados a Rodamina apresentaram valores intermediários de penetração intratubular ($P > 0,05$), mostrando que na ausência de umidade a Rodamina se comporta de forma diferente. Nestas situações, não interfere nos níveis de penetração dos cimentos endodônticos. Diversos estudos utilizaram a rodamina B como marcador para cimentos endodônticos à base de resina epóxica (KOK *et al.*, 2012; KOK *et al.*, 2014; MACHADO *et al.*, 2014; PIAI *et al.*, 2018) apresentando variados valores de penetração intratubular. Alguns destes trabalhos avaliam a penetração linear dos cimentos endodônticos (BHARTI *et al.*, 2018; ORDINOLA-ZAPATA *et al.*, 2009). Contudo, parece mais verídica uma avaliação da área de dentina impregnada pelo cimento, uma vez que mostra de maneira mais representativa a capacidade do cimento penetrar nos túbulos dentinários.

Por fim, a terceira hipótese nula foi rejeitada. Houve diferença na área de penetração dos cimentos de acordo com porção do canal radicular avaliada (apical, médio e cervical). Entretanto, apenas o terço apical dos grupos AH Plus/Fluo-3 e Sealer Plus BC/Fluo-3 a penetração intratubular foi inferior aos demais terços ($P < 0,05$). Este achado parece estar mais associado a dificuldade no processo de inserção do cimento obturador no canal radicular do que propriamente ao corante ou ao cimento testado, uma vez que os demais grupos apresentaram penetração intratubular similar, independente do terço do canal radicular avaliado. Durante os procedimentos de obturação, o terço apical pode ser considerado aquele que exige maior técnica do operador, pois é difícil visualizar o real preenchimento do cimento nesta área, assim como levá-lo de maneira adequada até esta porção do canal. Além disso, variações anatômicas explicam a menor penetração no terço apical quando comparado ao nível cervical, como, por exemplo, o número de túbulos dentinários e seu diâmetro diminuído na porção apical. Por fim, a dificuldade em levar o irrigante no terço apical reduz a eficácia das soluções irrigadoras durante o preparo químico-mecânico, o que poderia afetar a remoção da smear layer nesta área, tornando a penetração dos cimentos endodônticos menor (JARDINE *et al.*, 2016; PIAI *et al.*, 2018). No presente trabalho, a obturação foi realizada através da inserção do cone principal associado ao cimento endodôntico, seguida da condensação lateral com auxílio de espaçadores bidigitais para introdução dos cones acessórios até o completo preenchimento dos canais. De acordo com Kok *et al.* (2012) a técnica de obturação não influencia a penetração do cimento endodôntico nos túbulos dentinários.

6 CONCLUSÃO

Baseado nos achados da presente pesquisa, é lícito afirmar que o tipo de fluoróforo influencia a penetração intratubular dos cimentos à base de silicato de cálcio, mas não dos cimentos à base de resina epóxica. A natureza hidrofílica da Rodamina B gera resultados falso-positivos quando associada à cimentos biocerâmicos. O Fluo-3 pode ser utilizado associado tanto à cimentos à base de resina epóxica quanto cimentos de silicato de cálcio.

REFERÊNCIAS

- AL-HADDAD, A; ABU KASIM, N. H.; CHE AB AZIZ, Z. A. Interfacial adaptation and thickness of bioceramic-based root canal sealers. **Dent Mater J**, v. 34, n. 4, p. 516-521, 2015.
- ALMEIDA, L. H. S. *et al.* Are premixed calcium silicate-based endodontic sealers comparable to conventional materials? A systematic review of in vitro studies. **J Endod.**, v. 43, n. 4, p. 527-535, 2017.
- ARIAS-MOLIZ, M. T. *et al.* The effect of benzalkonium chloride additions to AH Plus sealer. Antimicrobial, physical and chemical properties. **J Dent**, v. 43, n. 7, p. 846-854, 2015.
- ARIKATLA, S. K. *et al.* Interfacial adaptation and penetration depth of bioceramic endodontic sealers. **J Conserv Dent**, v. 21, n. 4, p. 373-377, 2018.
- AYDIN, Z. U. *et al.* Effect of chitosan nanoparticle, QMix, and EDTA on TotalFill BC sealers' dentinal tubule penetration: a confocal laser scanning microscopy study. **Odontology**, v. 107, n. 1, p. 64-71, 2019.
- BALGUERIE, E. *et al.* Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. **J Endod**, v. 37, n. 1, p. 1576-1579, 2011.
- BARUAH, K. *et al.* Comparative Study of the Effect on Apical Sealability with Different Levels of Remaining Gutta-Percha in Teeth Prepared to Receive Posts: An *in vitro* Study. **Contemp Clin Dent**, v. 9, p. 261-265, 2018. Supl 2.
- BHARTI, R. *et al.* Depth and percentage of resin-based sealer penetration inside the dentinal tubules using EndoVac, EndoActivator, Navi tip FX irrigation system: A confocal laser scanning microscope study. **J Conserv Dent**, v. 21, n. 2, p. 216-220, 2018.
- CAMÕES, I. C. G. *et al.* Estudo comparativo entre duas técnicas obturadoras: Condensação lateral X Híbrida de Tagger. **Pesqui. bras. odontopediatria clín. integr.**, v. 7, n. 3, p. 217-222, set/dez 2007.
- CANDEIRO, G. T. *et al.* Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. **J Endod.**, v. 38, n. 6, p. 842-845, 2012.
- CORONAS, V. S. *et al.* **Dentinal tubule penetration of a calcium silicate-based root canal sealer using a specific calcium fluorophore.** Running head: Calcium fluorophore for bioceramic sealers. [2019]. Preprint aceito para publicação na revista Brazilian Dental Journal. Manuscrito fornecido pela autora para uso nesta monografia.
- DEUS, G. A. *et al.* Analysis of the film thickness of a root canal sealer following three obturation techniques. **Braz Oral Res**, v. 17, n. 1, p. 119-125, 2003.
- DEUS, G. A. *et al.* The influence of filling technique on depth of tubule penetration by root canal sealer: a study using light microscopy and digital image processing. **Aust Endod J**, v. 30, n. 1, p. 23-28, 2004.

- DEBAJ, P. *et al.* Push-Out Bond Strength and SEM Evaluation in Roots Filled with Two Different Techniques Using New and Conventional Sealers. **Materials (Basel)**, v. 11, n. 9, p. 1-10, 5 Sep. 2018.
- HAMMAD, M.; QUALTROUGH, A.; SILIKAS, N. Evaluation of Root Canal Obturation: A three-dimensional in vitro study. **J Endod**, v. 35, n. 4, p. 541-544, Apr. 2009.
- JARDINE, A. P. *et al.* The effect of final irrigation on the penetrability of an epoxy resin-based sealer into dentinal tubules: a confocal microscopy study. **Clin Oral Investig**, v. 20, n. 1, p. 117-123, 2016.
- JEONG, J. W. *et al.* P.M. Dentinal Tubule Penetration of a Calcium Silicate-based Root Canal Sealer with Different Obturation Methods. **J Endod**, v. 43, n. 4, p. 633-637, Apr. 2017.
- KHALIL, I.; NAAMAN, A.; CAMILLERI, J. Properties of Tricalcium Silicate Sealers. **J Endod**, v. 42, n. 10, p. 1529-1535, Oct. 2016.
- KOK, D. *et al.* Evaluation of epoxy resin sealer after three root canal filling techniques by confocal laser scanning microscopy. **Microsc Res Tech**, v. 75, n. 9, p. 1277-1280, 2012.
- KOK, D. *et al.* Penetrability of AH plus and MTA fillapex after endodontic treatment and retreatment: a confocal laser scanning microscopy study. **Microsc Res Tech**, v. 77, n. 6, p. 467-471, 2014.
- LEONARDO, M. R.; TOLEDO, L. R. **Endodontia: Tratamento de Canais Radiculares: princípios técnicos e biológicos**. São Paulo: Artes médicas, divisão odontológica, 2005. 1049p.
- MACHADO, R. *et al.* Lack of correlation between tubular dentine cement penetration, adhesiveness and leakage in roots filled with gutta-percha and an endodontic cement based on epoxy amine resin. **J Appl Oral Sci**, v. 22, n. 1, p. 22-28, Jan. 2014.
- MARTIN-BAUZA, G. A. *et al.* Physicochemical properties of methacrylate resin-based root canal sealers. **J Endod**, v. 36, n. 1, p. 1531-1536, 2010.
- MENDES, A. T. *et al.* Evaluation of Physicochemical Properties of New Calcium Silicate-Based Sealer. **Braz Dent J.**, v. 29, n. 6, p. 536-540, 2018.
- MOON, Y. M. *et al.* Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. **J Endod**, v. 36, n. 1, p. 732-736, 2010.
- OHLWEILER, O. A. **Química analítica quantitativa**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1974. 1040 p., v. 2.
- ORDINOLA-ZAPATA, R. *et al.* Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning microscopy study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 108, n. 3, p. 450-457, 2009.

PIAI, G. G. *et al.* Penetrability of a new endodontic sealer: A confocal laser scanning microscopy evaluation. **Microsc Res Tech.**, v. 81, n. 11, p. 1246-1249, Nov 2018.

PINHEIRO, B. C. P.; BRAMANTE, A. S.; HUSSNE, R. P. Influência da penetração de instrumentos, empregados na condensação lateral ativa, na qualidade da obturação dos canais radiculares. **J. Appl. Oral Sci**, v. 11, n. 3, p. 186-191, Jul./Set., 2003.

RAYMUNDO, A. *et al.* Análise radiográfica do preenchimento de canais laterais por quatro diferentes técnicas de obturação. **RSBO**, v. 2, n. 2, p. 22-27, 2005.

SILVA, R. V. *et al.* Filling Effectiveness and Dentinal Penetration of Endodontic Sealers: A Stereo and Confocal Laser Scanning Microscopy Study. **Braz. Dent. J.**, v. 26 n. 5, p. 541-546, Out. 2015

TANOMARU FILHO, M.; JORGE, E. G.; TANOMARU, J. M. G. Avaliação da capacidade seladora apical de materiais retrobturadores empregando corante rodamina B. **JBE, J. Bras. Endod.**, v. 6, n. 24, p. 89-93, 2006.

TÜRKER, S. A.; UZUNOĞLU, E.; PURALI, N. Evaluation of dentinal tubule penetration depth and push-out bond strength of AH 26, BioRoot RCS, and MTA Plus root canal sealers in presence or absence of smear layer. **J Dent Res Dent Clin Dent Prospects**, v. 12, n. 4, 294-298, Dec 2018.

VANNI, J. R. *et al.* Avaliação da capacidade do selamento de canais laterais simulados empregando diferentes técnicas de obturação e soluções irrigadores. **Dental Scienc**, v. 1, n. 1, p. 14-20, 2007.


UTNEJA S. *et al.* Current perspectives of bio-ceramic technology in endodontics: calcium enriched mixture cement - review of its composition, properties and applications. **Restor Dent Endod.**, v. 40, n. 1, p. 1-13, 2015.

VOGEL, A. I. **Química analítica quantitativa**. 5.ed. São Paulo: Mestre Jou, 1981.

WANG, Y; LIU, S; DONG, Y. In vitro study of dentinal tubule penetration and filling quality of bioceramic sealer. **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. 1-11, 2018.

WEIS, M. V.; PARASHOS, P.; MESSER, H. H. Effect of obturation technique on sealer cement thickness and dentinal tubule penetration. **Int Endod J**, v. 37, n. 1, p. 653-663, 2004.

ANEXO A – APROVAÇÃO COMPESQ

Sistema Pesquisa – Pesquisador: Ricardo Abreu Da Rosa			
 Linhas de Pesquisa Projetos de Pesquisa Áreas de Atuação Bolsas de Pesquisa Iniciação Científica/Tecnológica Voluntário Programa de Fomento à Pesquisa (pesqfj) Pós-Graduação Docentes e Técnicos Administrativo/Contábil			
Dados Gerais:			
Projeto Nº:	35533	Título:	AVALIAÇÃO DA PENETRAÇÃO INTRATUBULAR DE DOIS CIMENTOS OBTURADORES UTILIZANDO DOIS CORANTES PARA ANÁLISE EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA CONFOCAL A LASER
Área de conhecimento:	Endodontia	Início:	10/08/2018 Previsão de conclusão: 30/03/2019
Situação:	Projeto em Andamento		
Origem:	Faculdade de Odontologia Programa de Pós-Graduação em Odontologia	Projeto da linha de pesquisa: BIOMATERIAIS E TÉCNICAS TERAPÊUTICAS EM ODONTOLOGIA	
Local de Realização:	não informado		
Não apresenta relação com Patrimônio Genético ou Conhecimento Tradicional Associado.			
Objetivo:	<p>O estudo tem como objetivo avaliar a profundidade de penetração intratubular entre dois cimentos obturadores, Sealer Plus BC e AH Plus, utilizando dois corantes, Rodamina B e Fluo-3, para análise em microscopia eletrônica confocal a laser. Os canais de 40 dentes bovinos monorradiculares serão preparados com instrumentos de níquel-titânio e irrigados com hipoclorito de sódio 2,5% e EDTA 17%. As raízes serão distribuídas aleatoriamente em 4 grupos (n=10) de acordo com o cimento e o corante utilizados. Serão</p>		
Palavras Chave:	ENDODONTIA, RODAMINA, FLUO-3, CIMENTOS ENDODÔNTICO		