



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDODONTIA**

**Análise da interface adesiva de materiais obturadores à
dentina do canal radicular: Um estudo de diferentes
cimentos endodônticos e métodos observacionais**

Maybell Tedesco

FLORIANÓPOLIS

2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Tedesco, Maybell

Análise da interface adesiva de materiais obturadores à dentina do canal radicular : Um estudo de diferentes cimentos endodônticos e métodos observacionais / Maybell Tedesco ; orientadora, Cleonice da Silveira Teixeira ; coorientador, Marcelo Carvalho Chain. - Florianópolis, SC, 2016.

P. 107

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós Graduação em Odontologia.

Inclui referências

1. Odontologia. 2. microscopia eletrônica de varredura. 3. resistência de união. 4. interface adesiva. 5. microscopia de varredura a laser confocal. I. da Silveira Teixeira, Cleonice. II. Carvalho Chain, Marcelo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Odontologia. IV. Título.

MAYBELL TEDESCO

Análise da interface adesiva de materiais obturadores à dentina do canal radicular: Um estudo de diferentes cimentos endodônticos e métodos observacionais

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de concentração: Endodontia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cleonice da Silveira Teixeira

FLORIANÓPOLIS

2016

Folha assinada

DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus

Por ter me dado a vida, por ser meu esteio nos momentos em que me pareceu faltar o chão, por mostrar que sempre há um caminho, por mais grandiosos que os obstáculos possam parecer.

Por ter colocado em meu caminho pessoas especiais que amam o que fazem! Pessoas prestativas e amigas.

Agradeço à minha família

Por terem sempre me apoiado nas minhas decisões, nos momentos de alegria e de fraqueza. Incentivando para que eu continuasse no caminho traçado a fim de alcançar os meus objetivos. Especialmente aos meus pais, por terem me ensinado a trabalhar com determinação e honestidade. Agradeço à minha mãe, por me dar força e coragem para enfrentar os desafios desse caminho,

Agradeço a minha querida irmã e aos nossos laços indissolúveis de companheirismo e amizade.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço à minha orientadora Prof.^a Dr.^a Cleonice da Silveira Teixeira

Muito obrigada pelo empenho dedicado na elaboração e correção destes estudos.

Pela confiança e paciência em transmitir todos os ensinamentos. Foram anos de trabalho intenso em que pude contar com o seu apoio e que contribuíram imensamente para o crescimento pessoal e profissional. Você é uma pessoa generosa e que está disposta a auxiliar a todos que estão a sua volta. Desejo que seja feliz e que se sinta realizada todos os dias.

Agradeço ao meu coorientador Marcelo Carvalho Chain

Pela confiança, generosidade, por permitir e incentivar minha participação em estudos paralelos que enriqueceram meus conhecimentos.

Agradeço aos professores: Wilson Tadeu Felipe e Mara Cristina Santos Felipe

Pela disponibilidade, prestatividade na resolução de nossas dúvidas, pelos conselhos. Pelo exemplo de mestres e pesquisadores, nos passando segurança e credibilidade.

Agradeço aos professores doutores: Ana Maria Hecke Alves, Maria Helena Pozzobom

Pelos conselhos, pelas gentilezas compartilhadas. Por abrirem os caminhos nos momentos de dificuldades.

Agradeço ao professor doutor: Eduardo Antunes Bortoluzzi

Pela generosidade no empréstimo de materiais, ensinamentos e correções no presente estudo.

Agradeço aos professores doutores: Adriano Borgatto e Andrea Cristina Konrath

Pela paciência, generosidade e orientação nos testes estatísticos aplicados neste estudo.

Agradeço aos funcionários: Sérgio, Ana Maria, Lauro, Marli

Pela simpatia, amizade, por serem sempre prestativos. Com a ajuda de vocês foi possível superar diversos obstáculos.

***Agradeço ao LCME e aos seus funcionários: Eliana, Carmem,
Luciano e Eduardo***

*Pela disponibilidade e prestatividade nas nossas sessões de treinamento
e análises por MEV.*

Agradeço à equipe de microscopia do Biocel- UFPR

*Ao Professor Edvaldo e Israel, que gentilmente auxiliaram no preparo
de amostras e análises por microscopia Confocal.*

***Agradeço aos professores doutores da Policon- UFSC: Guilherme
Barra e Sílvia***

*Pelo auxílio quando os conhecimentos sobre materiais e testes se
esgotaram.*

***Agradeço aos meus colegas de pós-graduação: Gabriela Santos
Felippe, Josiane de Almeida, Luciane Geanini Pena, Anarela Vassen
Bernardi, Iane Nery, Gabriela Rover, Tamer Schmidt, Nayra
Bittencourt, Morgane Kuntze***

Pela amizade, companheirismo e alegrias compartilhadas.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e da persistência. Mesmo não atingindo o alvo quem busca e vence obstáculos no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

TEDESCO, M. Análise da interface adesiva de materiais obturadores à dentina radicular: Um estudo de diferentes cimentos endodônticos e métodos observacionais 2016 Tese (Doutorado em Odontologia – Área de Concentração: Endodontia – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC).

RESUMO

A adesão em endodontia é um processo complexo que depende de fatores químicos e mecânicos relativos à interação dos cimentos endodônticos à dentina das paredes do canal radicular. O material obturador firmemente aderido à dentina contribui para o preenchimento tridimensional do canal e longevidade da obturação. Estudos comparativos com diferentes materiais e métodos observacionais são essenciais para a avaliação e desenvolvimento de novos produtos. Sendo assim, os objetivos do presente estudo, *ex vivo* e *in vitro*, foram: 1º- Comparar a acurácia da microscopia eletrônica de varredura (MEV) com a microscopia de varredura a laser confocal (Confocal) na análise da interface adesiva e penetração intratubular de dois cimentos endodônticos, AH Plus e Endofill; 2º- Avaliar a existência de correlação entre resistência de união à dentina e penetração intratubular de três cimentos endodônticos: Endofill, AH Plus e MTA Fillapex por meio dos testes de *push-out* e análise com Confocal; 3º- Avaliar a influência da adição do corante fluorescente, rodamina B, nas propriedades físicas-químicas de dois cimentos endodônticos, AH Plus e MTA Fillapex. Embora os objetivos sejam correlacionados, os experimentos tiveram metodologias e amostras distintas, o que fez com que os resultados do presente estudo fossem apresentados em três artigos. Cada artigo foi detalhado de acordo com os objetivos propostos, recebeu análise estatística dos resultados obtidos e discussão embasada na literatura vigente.

Palavras-chave: cimentos endodônticos, resistência de união, interface adesiva, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de varredura a laser confocal.

TEDESCO, M. Adhesive interface evaluation of endodontic sealers to dentin: A study of different materials and observational methods
2016 Thesis (PhD in Dentistry – Option Endodontics– Post- Graduation Program of Dentistry, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis/SC).

ABSTRACT

The adhesion in endodontics is a complex process which depends on physical and mechanical factors related to the interaction between endodontic sealer to dentine canal walls. The filling material firmly attached to dentin contribute to the tridimensional filling and longevity of treatment. Comparative studies with different materials and observational methods are essential to evaluate and development of new products. Therefore, the objectives of the present study, *ex vivo e in vitro* were: 1°- Compare the accuracy of the scanning electronic microscopy evaluation (SEM) with confocal laser scanning microscopy (Confocal) on the adhesive interface and intratubular penetration evaluation of two endodontic sealers, AH Plus and Endofill; 2°- Evaluate the existence of a correlation between bond strength (BS) and intratubular penetration of three endodontic sealers: Endofill, AH Plus and MTA Fillapex, through push-out and Confocal evaluation; 3°- Evaluate the influence of the addition of a fluorescent dye, rhodamine B, in the physical-chemical properties of two endodontic sealers, AH Plus e MTA Fillapex. Although the objectives are correlated, the experiments had different methodology and samples; that makes the results of the present study be presented in three individual articles. Each article was detailed according to the goals proposed and have received statistical analysis of the data and discussion based on the current literature.

Keywords: adhesive interface, bond strength, endodontic sealers, scanning electronic microscopy, confocal laser scanning microscopy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 OBJETIVOS	17
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	17
2.2. <i>Objetivos Específicos</i>	17
3 ARTIGOS	19
3.1 ARTIGO 1: “Comparação entre dois métodos observacionais, MEV e Confocal, na análise da interface adesiva de cimentos endodônticos à dentina radicular”	19
3.2 ARTIGO 2: “Avaliação da resistência de união e da interface adesiva de cimentos endodônticos à dentina radicular por meio de <i>push-out</i> e Confocal”	45
3.3 ARTIGO 3 “Avaliação do efeito da incorporação de rodamina B nas propriedades físico-químicas dos cimentos endodônticos AH Plus e MTA Fillapex”	65
REFERÊNCIAS	89
APÊNDICE	104
Termo de Esclarecimento e Consentimento.....	104
ANEXO	106
Parecer do Comitê de Ética.....	107

1 INTRODUÇÃO GERAL

Entre os fatores que influenciam o sucesso do tratamento endodôntico se destacam as técnicas de preparo, as soluções irrigadoras, e os materiais utilizados no preenchimento do canal radicular (MONTEIRO et al., 2008). É durante o preparo, associado à irrigação, que se obtém a modelagem e a limpeza do sistema de canais radiculares proporcionando condições adequadas para o preenchimento tridimensional com o material obturador (KING et al., 1990; MILETIC et al., 1999; BABB et al., 2009; JAINAEN et al., 2009, TOPÇUOĞLU et al., 2014 (A); MOINZADEH et al., 2015).

A guta-percha é o material mais usado na obturação e pode ser encontrada na forma de cones principais, acessórios, ou acondicionada em dispositivos para uso em técnicas de obturação termoplastificada. Independentemente da técnica de obturação, esse material deve ser associado a um cimento, uma vez que não possui capacidade de se aderir à dentina (LEE et al., 2002; SLY et al., 2007; HUFFMAN et al., 2009, CAMILLERI et al., 2015, SCHÄFER et al., 2016).

A adesão é considerada uma das propriedades desejáveis dos cimentos endodônticos e pode ser definida como a capacidade de aderir às paredes do canal radicular e promover a união dos materiais obturadores à dentina (SOUSA-NETO et al., 2008; RACHED-JUNIOR et al., 2009; TOPÇUOĞLU et al., 2014 (A)). Em situações estáticas, a adesão proporcionada pelos cimentos evita espaços que, de outra forma, permitiriam a infiltração de fluidos na interface material obturador/dentina (ØRSTAVIK et al., 1983). Em situações dinâmicas, a adesão dos cimentos à dentina é benéfica para a preservação da integridade da interface de união durante a flexão dental, procedimentos restauradores, ou de preparo do espaço do canal para colocação de núcleo intraradicular (SALEH et al., 2003; HUFFMAN et al., 2009).

Idealmente, os cimentos utilizados na obturação devem preencher espaços, penetrar nos túbulos dentinários quando expostos, aderir-se a porção orgânica e inorgânica da dentina, e neutralizar microrganismos e seus subprodutos (LEE et al., 2002; DE DEUS et al., 2004; SCHWARTZ et al., 2006; KIM et al., 2009). Todavia, todas essas características, inerentes à composição de um cimento considerado ideal, não foram ainda concentradas em um único produto, o que justifica o desenvolvimento de novos materiais para este fim.

Atualmente, além dos cimentos com formulações à base de óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio, ionômero de vidro e resina,

outros cimentos com formulações à base de agregado trióxido mineral e de outros materiais biocerâmicos têm sido utilizados e bastante estudados (DE DEUS et al., 2002; MAMOOTIL, MESSER 2007; HUFFMAN et al., 2009; GANDOLFI et al., 2010; ASSMANN et al., 2011; TOPÇUOĞLU et al., 2014 (B)). Independentemente do tipo de cimento endodôntico utilizado, é desejável que este proporcione adaptação do material obturador às paredes do canal radicular.

A interface adesiva material obturador/dentina, assim como a penetração intratubular dos cimentos, tem sido extensamente estudada (AKTENER et al., 1989; SEN et al., 1996; KOUVAS et al., 1998; KOKKAS et al., 2004; GHODDUSI et al., 2010; NEELAKANTAN et al., 2011; CHANDRA et al., 2012; HARAGUSHIKU et al., 2012; TEDESCO et al., 2014; VIAPIANA et al., 2014; BITTER et al., 2014; KIM et al., 2015). Percebe-se que existe preocupação em encontrar um cimento que proporcione interface contínua e homogênea entre dentina e guta-percha, e que funcione como barreira física, diminuindo os riscos de infiltrações subsequentes (SIQUEIRA et al., 1999; SEVIMAY et al., 2005; MASTORAS et al., 2012; VIEIRA et al., 2012; WONG et al., 2013; MACHADO et al., 2014). Apesar de diversos estudos presentes na literatura analisarem a formação e qualidade da interface adesiva (AKTENER et al., 1989; SEN et al., 1996; KOUVAS et al., 1998; KOKKAS et al., 2004; GHODDUSI et al., 2010; NEELAKANTAN et al., 2011; HARAGUSHIKU et al., 2012; TEDESCO et al., 2014), poucos têm correlacionado a resistência de união à dentina com a qualidade da interface e profundidade de penetração dos cimentos (DE-DEUS et al., 2012; MACHADO et al., 2014).

Diversos fatores podem influenciar a penetração dos cimentos nos túbulos dentinários. O uso de soluções quelantes na remoção da lama dentinária melhora a adaptação do material nas paredes do canal e favorece a penetração intratubular (OKSAN et al., 1993; VASSILIADIS et al., 1994; DE DEUS et al., 2004). O contato de materiais bioativos com soluções que simulam o fluido tissular, tal qual a solução tampão fosfatossalino (PBS), podem proporcionar aumento da penetração intratubular (HUFFMAN et al., 2009; MORADI et al., 2009) e da resistência de união à dentina desses materiais (REYES-CARMONA et al., 2010; DE-ALMEIDA et al., 2014). O estudo de Reyes-Carmona et al. (2010) mostrou que a resistência de união do agregado de trióxido mineral (MTA) à dentina radicular aumentou após a imersão dos espécimes em PBS por 60 dias, devido ao processo chamado pelos autores de biomineralização. Em outro estudo, realizado por Moradi et al. (2009), os autores verificaram que a imersão em PBS por 90 dias influenciou no

aumento da penetração intratubular do cimento AH 26. Em contrapartida, Tedesco et al. (2014) não observaram aumento da resistência de união, ou melhora na qualidade da interface adesiva/penetração intratubular dos cimentos Endofill, Sealapex, MTA Fillapex, AH Plus após 60 dias de imersão em PBS.

Diferentes técnicas de microscopia podem ser empregadas para análise da adaptação dos materiais às paredes do canal. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia de varredura a laser confocal (Confocal) são comumente empregadas em estudos da interface entre material obturador/dentina radicular (WATSON et al., 1989; DE DEUS et al., 2002; BITTER et al., 2004; SEVIMAY et al., 2005; PATEL et al., 2007; BITTER et al., 2009; ZAPATA et al., 2009; GANDOLFI et al., 2010; DE-DEUS et al., 2012; MACHADO et al., 2014; BITTER et al., 2014, FERNÁNDEZ et al., 2015). Devido à possibilidade de visualização da interface em diferentes magnificações, e a penetração dos cimentos nos túbulos dentinários também pode ser analisada e mensurada (WATSON et al., 1989; DE-DEUS et al., 2002; BITTER et al., 2004; SEVIMAY et al., 2005; PATEL et al., 2007; BITTER et al., 2009; ZAPATA et al., 2009; GANDOLFI et al., 2010; DE-DEUS et al., 2012; MACHADO et al., 2014).

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é um método observacional muito versátil. Pode ser usada para a análise da microestrutura de materiais sólidos e visualização da interface de diversos materiais aos tecidos dentários. As imagens geradas por MEV são facilmente interpretadas, não obstante a complexidade dos mecanismos para a obtenção das mesmas. Entretanto, apesar da qualidade das imagens, a maioria das análises é realizada sob alto vácuo, o que pode danificar a amostra e criar artefatos (BITTER et al., 2004; DE DEUS et al., 2004; BITTER et al., 2009). Além disso, durante o preparo técnico das amostras não metálicas, a desidratação, a desmineralização e a secagem dos espécimes antes do recobrimento com ouro ou outro metal nobre, podem criar mais artefatos e dificultar a observação das estruturas de interesse e contribuir para a formação e a quantificação de falhas (BITTER et al., 2004; DE DEUS et al., 2004; PATEL et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2009; BITTER et al., 2009).

A microscopia Confocal é outro método utilizado com frequência na análise dos materiais odontológicos. Na aquisição e processamento das imagens por Confocal há uma combinação de recursos de microscopia óptica aliadas a princípios de mecânica quântica, físico-química e computação. Esse tipo de microscopia também pode ser utilizado para analisar o mecanismo de adesão da dentina com cimentos e sistemas

adesivos (BITTER et al., 2004; BITTER et al., 2009; ZAPATA et al., 2009). Uma das vantagens do uso do Confocal em relação ao MEV é a maior preservação do espécime a ser analisado, por não haver necessidade de exposição ao vácuo e conseqüentemente menor formação de artefatos.

O uso de Confocal apresenta-se, portanto, como alternativa para a realização do estudo morfológico da interface adesiva, permitindo a análise das amostras com pouquíssimo preparo e menores chances de danos às mesmas (BITTER et al., 2009; ZAPATA et al., 2009). O microscópio de varredura a laser confocal varre os espécimes na superfície e em profundidade, mostrando as estruturas de interesse e possibilitando a formação de imagens tridimensionais (BITTER et al., 2004; PATEL et al., 2007; BITTER et al., 2009; ZAPATA et al., 2009). Para a obtenção das imagens pelo varrimento a laser só é possível com o acréscimo de corantes fluorescentes aos materiais que serão estudados (D'ALPINO et al., 2006; GHARIB et al., 2007; PATEL et al., 2007; SAURO et al., 2008; ZAPATA et al., 2009; BITTER et al., 2009; CHANDRA et al., 2012; PROFETA et al., 2012; PROFETA et al., 2013; TOLEDANO et al., 2013). Os corantes fluorescentes absorvem energia radiante em determinados comprimentos de onda e transformam essa energia em fótons de comprimentos maiores na região visível do espectro. Quando associados aos cimentos, os fluoróforos se distribuem homogeneamente e, ao serem excitados por uma luz apropriada, os marcadores fluorescentes mostram a estrutura que foi marcada (BIM 2013).

Até o momento, o acréscimo de corante ao material estudado tem sido realizado de forma relativamente empírica. Estudos envolvendo o uso de rodamina B apontam que concentrações de 0,1% são efetivas na obtenção de imagens com Confocal (BITTER et al., 2009; BIM 2013). Todavia, não foram encontrados estudos que analisaram qual a quantidade de marcador que deve se utilizar, de modo a não afetar as propriedades físico-químicas do material analisado (D'ALPINO et al., 2006).

Diante do exposto, observa-se a necessidade da realização de novos estudos que contemplem as lacunas do conhecimento, relacionados a seguir.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar a interface adesiva de cimentos endodônticos à dentina radicular por meio de diferentes métodos observacionais.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1. Comparar a acurácia do uso de MEV e do Confocal na análise da interface adesiva e da penetração intratubular de dois cimentos endodônticos, AH Plus e Endofill.

2.2.2. Verificar a existência de correlação entre resistência de união à dentina e penetração intratubular de três cimentos endodônticos: Endofill, AH Plus e MTA Fillapex, por meio dos testes de *push-out* e por Confocal.

2.2.3. Avaliar o efeito da incorporação de rodamina B nas propriedades físico-químicas dos cimentos AH Plus e MTA Fillapex.

A fim de responder aos objetivos propostos, a presente tese foi composta de três artigos detalhados a seguir.

3 ARTIGOS

3.1 ARTIGO 1

**Comparação entre dois métodos observacionais, MEV e Confocal,
na análise da interface adesiva de cimentos endodônticos à dentina
radicular**

Tedesco M; Chain MC, Teixeira CS

Artigo formatado para a revista International Endodontic Journal

Departamento de Odontologia, Endodontia, Universidade Federal de
Santa Catarina - UFSC

CEP:88040-900-Trindade-Florianópolis (SC) - Brasil

Resumo

Objetivo Comparar o uso de MEV e Confocal na análise da interface adesiva e penetração intratubular dos cimentos Endofill e AH Plus à dentina radicular.

Materiais e métodos Vinte raízes de dentes humanos tiveram seus canais preparados e irrigados com NaOCl 1% e, ao final, com EDTA 17% e NaOCl 1%. Depois de secos, foram divididos em 2 grupos (n=10) e obturados com guta-percha e Endofill (G1) ou AH Plus (G2), acrescidos de rodamina B 0,1%. Após 07 dias, foram obtidas fatias transversais com 2 mm de espessura, que foram analisadas por Confocal e posteriormente em MEV. Os escores utilizados para análise da interface variaram de 0 (falhas nos quatro quadrantes) a 4 (livre de falhas); e para a penetração intratubular foram: 0, sem penetração; 1, < 20 μm ; 2, entre 20 a 100 μm ; e 3, > 100 μm . Os dados foram analisados pelos testes de Wilcoxon, Mann Whitney e correlação por Kendall ($\alpha = 5\%$).

Resultados Na comparação entre os métodos, a análise por Confocal foi estatisticamente semelhante ($p = 0,157$) à realizada por MEV na avaliação da interface do Endofill, mas diferente ($p < 0,05$) na avaliação da interface do AH Plus, e na avaliação da penetração intratubular de ambos os cimentos. Quando os cimentos foram comparados, houve diferenças significativas ($p < 0,05$) na interface adesiva formada e na penetração intratubular, com resultados superiores para o AH Plus, independentemente do método observacional utilizado. A análise da correlação (Kendall) entre MEV e Confocal na avaliação da interface adesiva foi moderada para o Endofill e baixa para o AH Plus, e na avaliação da penetração intratubular a correlação entre os métodos foi baixa para os dois cimentos.

Conclusão As análises por MEV e Confocal tiveram resultados semelhantes quando os cimentos foram comparados entre si, revelando interface homogênea e maior penetração intratubular para o cimento AH Plus. Quando os métodos foram comparados houve correlação positiva entre as análises por Confocal e MEV das interfaces adesivas (moderada para o Endofill e baixa para o AH Plus); e da penetração intratubular (baixa para os dois cimentos).

Palavras-chave: cimentos endodônticos, Confocal, MEV, correlação, interface adesiva, penetração intratubular.

Abstract

Aim To compare the use of SEM and Confocal, on the analysis of adhesive interface and intratubular penetration of the Endofill and AH Plus sealers to radicular dentin.

Methodology Twenty roots from humans had their canals prepared and irrigated with 1% NaOCl and at the end with 17% EDTA and 1% NaOCl. Dried, were divided in 2 groups (n = 10) and filled with gutta percha and: Endofill (G1), or AH Plus (G2), added with 0,1% rhodamine. After 07 days, were obtained transversal slices of 2 mm thickness that were analysed by Confocal and later by SEM. The scores used for interface analysis ranged from 0 (gaps in all quadrants) to 4 (free of gaps in 4 quadrants); and for intratubular penetration were: 0, no penetration; 1, < 20 µm; 2, between 20 and 100 µm; and 3 > 100µm. Data were submitted to statistical tests of Wilcoxon, Mann Whitney and Kendall correlation ($\alpha = 5\%$).

Results The comparison between the methods, the Confocal analysis was statistically similar ($p = 0.157$) to the performed by SEM for the adhesive interface evaluation of Endofill, but different ($p < 0.05$) in the analysis of the AH Plus interface, and in the evaluation of intratubular penetration of both sealers. When the sealers were compared, there were significant differences ($p < 0.05$) in the adhesive interface formed and in the intratubular penetration, with superior results to AH Plus, regardless of the observational method used. The correlation analysis (Kendall) between SEM and Confocal in the analysis of adhesive interface was moderated for Endofill and low to AH Plus, and in the evaluation of intratubular penetration the correlation between the method was low for both sealers.

Conclusion The analysis by SEM and Confocal had similar results when the sealers were compared between each other, revealing homogeneous and higher intratubular penetration for AH Plus sealer. When the methods were compared there was positive correlation between the analysis by SEM and Confocal of the adhesive interface (moderated for Endofill and low for AH Plus) and for the intratubular penetration (low for both sealers).

Keywords: endodontic sealers, Confocal, SEM, correlation, adhesive interface, intratubular penetration.

Introdução

A obturação do canal radicular é uma importante etapa do tratamento endodôntico. A qualidade final da obturação na busca de um selamento tridimensional reflete todo o esforço despendido nas etapas anteriores para obter a limpeza e o saneamento do sistema de canais (Siqueira *et al.* 1999, Baumgartner *et al.* 2007). Os materiais de preenchimento utilizados são os cones de guta-percha, principais e acessórios, associados a um cimento endodôntico, uma vez que a guta-percha não se adere ao canal radicular (Sly *et al.* 2007, Huffman *et al.* 2009, Topçuoğlu, *et al.* 2014, Camilleri *et al.* 2015).

O cimento endodôntico contribui na formação da interface contínua e homogênea à dentina (Kim *et al.* 2010, Camilleri *et al.* 2015), preenche os espaços e evita a formação de falhas (*gaps*) (Hammad *et al.* 2008, Moinzadeh *et al.* 2015). Os *gaps*, quando presentes, favorecem a infiltração de fluidos e a contaminação por bactérias contribuindo para o fracasso da terapia endodôntica (Siqueira *et al.* 1999, Biggs *et al.* 2006). Dentre os fatores que interferem na formação da interface adesiva material obturador/dentina estão as características anatômicas do canal radicular, as técnicas de preparo, a remoção da lama dentinária, as técnicas obturadoras e os próprios cimentos endodônticos empregados na obturação (White *et al.* 1987, Weis *et al.* 2004, Okşan *et al.* 1993, Mamootil & Messer 2007, Viapiana *et al.* 2014, Moinzadeh *et al.* 2015). Além desses fatores outros como: a integridade da matriz de colágeno da dentina (Van strijp *et al.* 2003, De Munck *et al.* 2009, Santos *et al.* 2015); capacidade dos cimentos endodônticos de penetrar, aderir e interagir com o substrato dentinário (Mamootil & Messer *et al.* 2007, Atmeh *et al.* 2012, Viapiana *et al.* 2014) e pré-tratamentos aplicados à dentina (Tuncer & Tuncer 2012) interferem na formação da interface adesiva. Devido à sua importância, a formação da interface cimento/dentina tem sido objeto de diversos estudos (Teixeira *et al.* 2008, Bitter *et al.* 2009, Zapata *et al.* 2009, Machado *et al.* 2014, Bitter *et al.* 2014, Fernández *et al.* 2015).

Existem vários tipos de cimentos que podem ser utilizados na obturação. No entanto, as propriedades desejáveis para que o cimento possa ser considerado ideal não estão concentradas em apenas um produto, por exemplo os cimentos à base de resina epóxica, por exemplo, apresentam boa adaptação às paredes do canal e pouca formação de *gaps* (Mamootil & Messer 2007, Balguerie *et al.* 2011, Fang *et al.* 2012, Haragushiku *et al.* 2012, Viapiana *et al.* 2014). Porém, não são capazes de interagir com a dentina, assim como o que ocorre com os materiais à

base de biocerâmicos no processo chamado de biomineralização (Reyes-Carmona *et al.* 2010).

A adaptação dos materiais à dentina radicular pode ser analisada por diversos métodos observacionais. A microscopia é utilizada com frequência na análise da interface adesiva e penetração intratubular (Chandra *et al.* 2012, Profeta *et al.* 2012, Profeta *et al.* 2013, Toledano *et al.* 2013, Viapiana *et al.* 2014). O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é o instrumento de pesquisa mais comumente empregado, pois permite observar a topografia das amostras (Patel *et al.* 2007, Bitter *et al.* 2009, Shokouhinejad *et al.* 2011, Heintze *et al.* 2013). Todavia, apesar da adequada definição das estruturas visualizadas e da facilidade da interpretação das imagens, existem fatores a considerar. O preparo delicado das amostras, quando submetidas ao processo de desidratação, desmineralização, polimento e alto vácuo, pode causar a produção de artefatos que podem ocasionar *gaps* artificiais e dificultar a visualização da interface adesiva (Santini *et al.* 2008, Bitter *et al.* 2009, Teixeira *et al.* 2009).

Uma alternativa para evitar a formação de artefatos é a visualização da interface por meio de um método que não submeta as amostras à preparos extensos (Bitter *et al.* 2009). A microscopia óptica de varredura a laser confocal (Confocal) tem sido uma alternativa empregada para análise da interface adesiva, pois além da avaliação topográfica pode mensurar as amostras em profundidade (Watson *et al.* 1989, Watson *et al.* 1997, Bitter *et al.* 2004, Patel *et al.* 2007, Bitter *et al.* 2009, Zapata *et al.* 2009). Nesse tipo de microscopia as amostras podem ser visualizadas até mesmo em ambiente úmido (Bitter *et al.* 2004). No entanto, para o uso do microscópio óptico de varredura a laser confocal (CLSM) é necessário que o cimento obturador seja marcado com um corante fluorescente (D'Alpino *et al.* 2006). O acréscimo de corantes aos cimentos e /ou adesivos permite que a estrutura marcada pelo corante seja excitada por determinados comprimentos de onda e se transforme em um espectro visível (D'Alpino *et al.* 2006, Gharib *et al.* 2007, Patel *et al.* 2007, Sauro *et al.* 2008, Bitter *et al.* 2009, Zapata *et al.* 2009, Chandra *et al.* 2012, Profeta *et al.* 2012, Profeta *et al.* 2013, Toledano *et al.* 2013).

Estudos mostram que ambos os métodos observacionais, Confocal e MEV, proporcionam alta qualidade das imagens das estruturas avaliadas (Bitter *et al.* 2004). Porém, ainda existem dúvidas sobre o método mais adequado para avaliar a interface adesiva e penetração intratubular.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi comparar e correlacionar a acurácia das microscopias Confocal e MEV na acurácia

da análise da interface adesiva e penetração intratubular de dois cimentos endodônticos, AH Plus e Endofill. A hipótese nula considerada no presente estudo é a de que não haverá diferenças nas análises realizadas, independentemente dos cimentos ou métodos observacionais utilizados.

Materiais e métodos

Seleção de dentes e preparo dos espécimes

Este estudo foi realizado *ex vivo* após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC. A doação dos dentes foi realizada após a assinatura de um Termo de Doação, conforme modelo apêndice 1.

Foram utilizados 20 dentes extraídos de humanos, por razões alheias a pesquisa. Após radiografias realizadas no sentido próximo-proximal foram selecionados dentes com raiz e canal único, comprimento aproximado de 22 mm, sem presença de calcificações, sem trincas e sem curvaturas. Após a remoção do cálculo e tecidos moles remanescentes, os dentes foram lavados e mantidos em timol 0,1% diluído em soro fisiológico 0,9%, pH 7 até o momento do experimento.

As coroas foram removidas 1 mm coronalmente aquém da junção cimento-esmalte usando-se um disco diamantado (Brasseler Dental Products, Savannah, Ga, EUA), sob constante refrigeração. Após o preparo da entrada, os canais foram explorados e mensurados pelo método direto, inserindo-se uma lima K #15 até a visualização da ponta no forame apical. O comprimento de trabalho de modelagem foi determinado subtraindo-se 1 mm desse comprimento e a modelagem dos canais foi realizada pela técnica coroa-ápice. Os canais foram preparados com o uso de instrumentos rotatórios do sistema ProTaper Universal (Dentsply Maillefer-Ballaigues, Switzerland) até o F3. Durante o preparo a patência do forame apical foi mantida com lima K #15 no comprimento do dente e os canais irrigados com 2 mL de NaOCl a 1% (Precisão-laboratório de manipulação, Curitiba, Brasil) entre cada lima ou instrumento utilizado. A irrigação final foi realizada com 3 mL EDTA a 17% (Precisão-laboratório de manipulação Curitiba, Brasil), por 3 min, seguido de 3 mL de NaOCl 1% (Precisão-laboratório de manipulação, Curitiba, Brasil). Após o preparo os canais foram secos com pontas de papel absorvente (Dentsply Maillefer, Tulsa, OK, USA) e aleatoriamente divididos em dois grupos (n = 10) de acordo com o cimento obturador que foi utilizado com guta-percha: Grupo 1- Endofill (Dentsply Ind. Co.,

Petrópolis, Brasil), Grupo 2- AH Plus (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Alemanha).

Após a manipulação, os cimentos foram levados ao canal radicular com auxílio do cone principal. A obturação foi realizada pela técnica da compactação lateral e ao cimento de escolha foi acrescido 0,1% rodamina B diluída em água destilada (Batch 121K3688, RITC\Rhodamine B R6626 Sigma, St Louis, MO, EUA). A obturação foi complementada com o uso de cones acessórios (Dentsply Maillefer, Tulsa, OK, USA) e, após o corte do material, o selamento foi realizado com cimento provisório (Citodur, Wilcos, Petrópolis, RJ, Brasil). Os espécimes foram mantidos em umidade 100% e em estufa a 37° C por 07 dias.

Preparo dos espécimes para Confocal e MEV

Removidos da estufa, os espécimes foram fixados sobre placas de acrílico com godiva de baixa fusão. As raízes foram seccionadas perpendicularmente em relação ao longo eixo da raiz em fatias de 2 mm de espessura. Os cortes foram realizados na máquina de cortes Isomet 1.000 (Buehler, Lake, Forest, IL, EUA), com um disco diamantado dupla face (South Bay Technology, San Clement, CA, EUA) sob irrigação constante e velocidade de 325 rpm. Foram selecionadas 3 fatias de cada raiz, 1 para cada região (cervical, média e apical). Cada fatia foi posicionada em fita adesiva dupla-face com a face cervical voltada para baixo. Tubos de alumínio de 5 mm de altura e 2 cm de diâmetro serviram como anteparo para a inclusão das fatias em resina de poliéster. Após a polimerização da resina, as amostras foram polidas com lixas de granulações decrescentes de 400, 600 e 1,200 e com panos para polimento associados a pastas de granulação de 0,3 e 0,1 μm (Arotec, São Paulo, SP, Brasil).

As amostras foram secas a 37°C, por 24 h, e divididas em quatro quadrantes com marcações realizadas com lâmina de bisturi nº 12. Posteriormente, as amostras foram fixadas em lâminas e lamínulas de vidro com o auxílio de cola adesiva à base de cianocrilato aplicada sobre a resina de poliéster. As amostras foram mantidas em ambiente protegido da luz até a análise no microscópio CLSM.

Após a análise por Confocal, as mesmas amostras foram preparadas para MEV, de acordo com o protocolo sugerido por Teixeira *et al.* (2009). Brevemente, após as etapas de fixação e desidratação, as amostras foram desmineralizadas com ácido clorídrico 6 mol/L (Dermus, Florianópolis, SC, Brasil) por 30 segundos e desproteinizadas com

hipoclorito de sódio 2% (Dermus, Florianópolis, SC, Brasil) por 10 min. Na sequência, as amostras foram lavadas com água destilada, secas em estufa a 37°C por 24 h e colocadas em câmara à vácuo para recobrimento com ouro (300 Å).

Análise das imagens obtidas por Confocal e MEV

A análise das amostras utilizando-se o microscópio CLSM (A1+ Nikon Instruments Inc, Tóquio, Japão) foi realizada no laboratório Biocel - UFPR (Curitiba-PR- Brasil). As imagens foram realizadas em modo de fluorescência a partir da superfície da amostra e a uma profundidade de 20 µm abaixo da superfície, como proposto por Santini *et al.* 2008 e Bitter *et al.* 2009. Foram utilizados os aumentos de 100x e 400x e comprimento de onda mantido entre 568 a 890 nm.

As análises por MEV foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME, UFSC), com o microscópio JEOL (JEOL_JSM 6390 LV, Akishima, Japão) operando entre 10 Kv e 20 Kv. A aquisição das imagens com MEV para a análise da interface adesiva dos cimentos à dentina radicular foi realizada empregando-se uma magnificação de 100x.

As fotos, capturadas em formato digital, permitiram avaliar-se e comparar-se a interface adesiva e mensurar penetração intratubular dos cimentos à dentina. O software LASA.AF Leica (*Leica Microsystems CMS GmbH*) foi utilizado para análise das imagens obtidas por Confocal e MEV. As análises quali-quantitativas das interfaces adesivas em Confocal e MEV incluíram as seguintes estruturas: 1) Interface dentina/cimento endodôntico analisada por quadrantes de acordo com a presença de *gaps* ou de interface contínua e homogênea. A classificação foi realizada por meio de escores (0-4): 0 para ausência de interface contínua e homogênea (presença de *gaps* em todos os quadrantes); 1 para presença de interface contínua e homogênea em 1 quadrante, escore 2 presença de interface contínua e homogênea em 2 quadrantes, 3 presença de interface contínua e homogênea em 3 quadrantes e escore 4 presença de interface contínua e homogênea em 4 quadrantes.

2) Análise da formação e morfologia de *tags* de cimento, profundidade de penetração nos túbulos dentinários. Os seguintes escores foram atribuídos: 0 - para ausência de *tags*, 1- para *Tags* < 20 µm (curtos e em pouca quantidade), 2- *Tags* com comprimentos entre 20 a 100 µm e em maior quantidade, e 3 - *Tags* >100 µm, longos e em grande quantidade.

Foram analisadas as imagens referentes a 120 quadrantes dos grupos G1 e G2. As análises resultaram em 240 quadrantes analisados por Confocal e 240 quadrantes analisados por MEV.

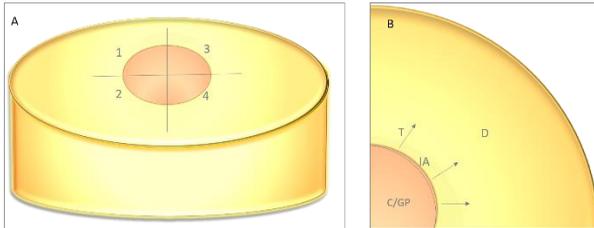


Figura 1 Imagem representativa das regiões observadas e avaliadas quanto à interface adesiva (A) e da penetração intratubular dos cimentos endodônticos em cada quadrante (B). IA- Interface adesiva, T- tags, C/GP – cimento e guta-percha, D – dentina.

As imagens obtidas por MEV e Confocal foram avaliadas por dois examinadores previamente calibrados. Em caso de discrepância, a análise foi revista até a existência de consenso entre os avaliadores.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes estatísticos não-paramétricos, Wilcoxon e Mann-Whitney. Para avaliar possíveis correlações entre os métodos observacionais foi selecionado o teste de correlação de Kendall. O nível de significância considerado foi de 5%.

Resultados

Comparação entre métodos observacionais, Confocal e MEV

As análises da interface adesiva e penetração intratubular por quadrante de cada amostra estão representadas por escores e expressas em percentuais na Figura 2. Na avaliação da interface adesiva, as análises por Confocal e MEV foram estatisticamente semelhantes entre si (Wilcoxon, $p = 0,157$) para as amostras do cimento Endofill, e significativamente diferentes para as amostras do cimento AH Plus ($p = 0,029$).

Foi possível observar a presença de maior número de trincas e rachaduras nos espécimes quando analisados em MEV do que quando analisados em Confocal (Fig. 3). Da mesma forma a presença de falhas

na análise da interface adesiva foi mais facilmente visualizada no MEV do que no Confocal (Fig. 4).

Quanto à penetração intratubular, houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre as análises realizadas por MEV e Confocal em ambos os cimentos, Endofill ($p < 0,0001$) e AH Plus ($p < 0,0001$). No Confocal foi possível observar maior quantidade de *Tags* e com maior comprimento. Porém, com o uso do MEV foi possível visualizar maior riqueza de detalhes dos *tags* de cimento formados (Fig. 4F).

Tabela 1 Moda e desvio padrão dos escores originados a partir da análise por MEV ou Confocal, quanto à interface adesiva (escores de 0 a 4) e à penetração intratubular (escores de 0 a 3) dos cimentos endodônticos Endofill e AH Plus.

Métodos	Cimentos			
	Endofill		AH Plus	
	Interface	Penetração	Interface	Penetração
<i>MEV</i>	4,00 (1,34)	0,00 (0,56)	4,00 (0,75)	0,00 (0,94)
<i>Confocal</i>	4,00 (1,37)	2,00 (0,99)	4,00 (1,00)	3,00 (1,21)

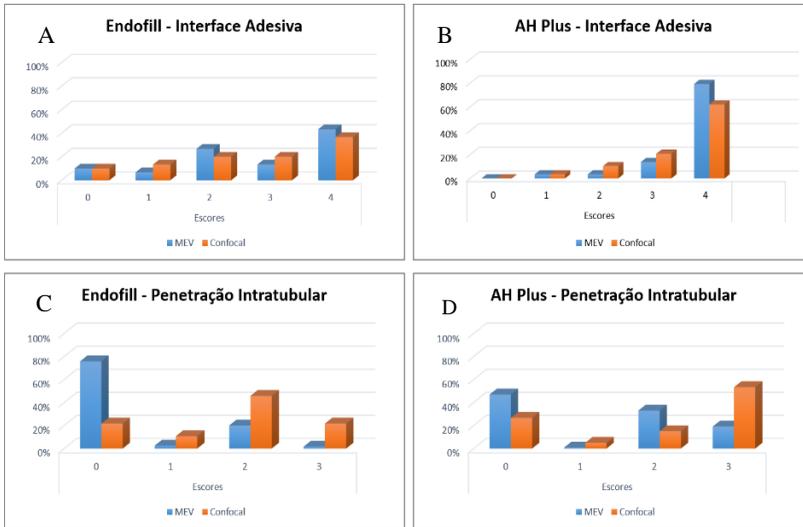


Figura 2 Resultados dos escores determinados (%) após análise da qualidade da interface adesiva e penetração intratubular observada em cada um dos cimentos, por Confocal e MEV. Em A e B a análise da interface adesiva. Em C e D penetração intratubular. Os escores utilizados para análise da interface variaram de 0 (falhas nos quatro quadrantes) a 4 (livre de falhas). Os escores para penetração intratubular foram considerados de 0, sem penetração; 1, < 20 μm ; 2, entre 20 a 100 μm ; e 3, > 100 μm .

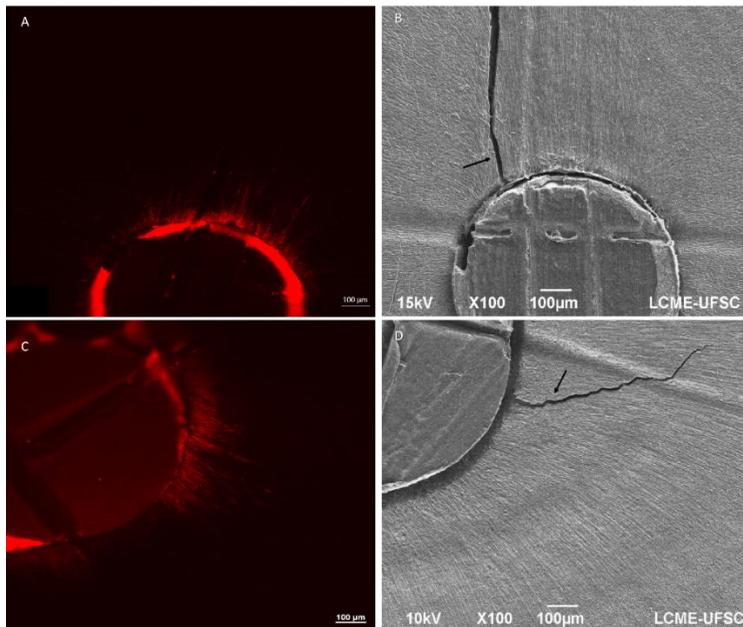


Figura 3 Imagens representativas das amostras de Endofill visualizadas por Confocal e MEV. Observam-se a presença de trincas ou rachaduras após o preparo para MEV. Em A e C imagens obtidas por observação no microscópio CLSM em aumento de 100x. Em B e D imagens obtidas por observação no MEV em aumento de 100x. As setas nas imagens B e D indicam trincas na dentina após o preparo para observação em MEV que não foram observadas no microscópio CLSM.

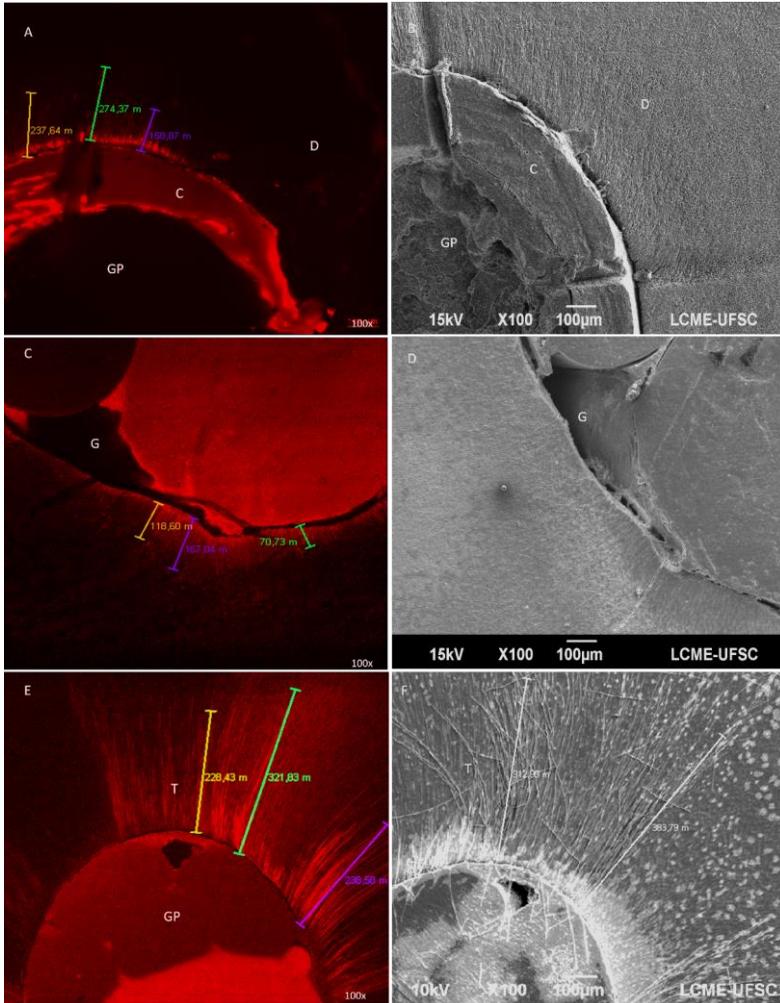


Figura 4 Imagens representativas da análise da interface adesiva e penetração intratubular analisadas por Confocal e MEV. Em A, C e E análise por Confocal e em B, D e F análise por MEV. Em A e B amostras do cimento Endofill. Observa-se interface íntegra por Confocal (A) e MEV (B). Em C e D presença de *gap* (G) e pouca penetração de cimento Endofill. Em E e F imagens representativas do cimento AH Plus, evidenciando presença de interface adesiva íntegra e formação de *tags* em maior quantidade e profundidade (T). D – dentina, C- cimento, GP - gutta-percha.

Comparação entre os cimentos endodônticos, Endofill e AH Plus

A análise comparativa (Mann-Whitney) da interface adesiva entre os cimentos Endofill e AH Plus mostrou diferenças estatisticamente significantes quando avaliados por ambos os métodos observacionais, Confocal ($p = 0,001$) e MEV ($p = 0,0000$).

A comparação entre os cimentos Endofill e AH Plus quanto à penetração intratubular mostrou diferenças estatisticamente significativas nos dois métodos observacionais utilizados, Confocal $p = 0,004$ e MEV $p = 0,000$. Entretanto, foram observados *tags* de cimentos em maior quantidade e com maior profundidade de penetração com uso do Confocal. A análise da interface adesiva e da penetração intratubular por quadrante de cada amostra está representada por escores e expressa em percentuais na Figura 5.

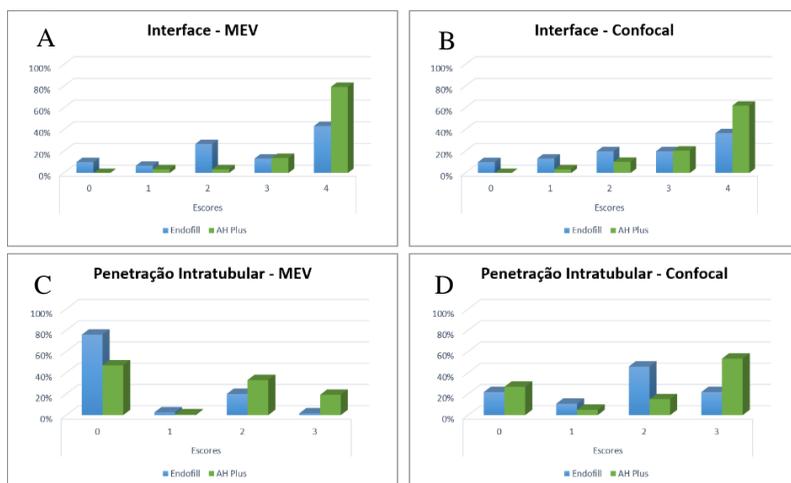


Figura 5: Resultados dos escores determinados (em %) após análise da qualidade da interface adesiva e penetração intratubular observada em cada um dos cimentos Endofill e AH Plus analisados por Confocal e MEV. Em A e B a análise da interface adesiva. Em C e D penetração intratubular. Os escores utilizados para análise da interface variaram de 0 (falhas nos quatro quadrantes) a 4 (livre de falhas). Os escores para penetração intratubular foram considerados de 0, sem penetração; 1, < 20 μm ; 2, entre 20 a 100 μm ; e 3, > 100 μm .

Correlação entre Confocal e MEV

A análise da correlação (Teste Tau de Kendall) dos resultados obtidos por MEV e Confocal estão expostos nas Tabelas 1 e 2. Houve correlação moderada ($\tau = 0,663$) entre as análises por Confocal e MEV da interface adesiva das amostras do cimento Endofill, mas na análise das amostras do AH Plus a correlação foi baixa ($\tau = 0,362$). A correlação entre as análises feitas por Confocal e MEV da penetração intratubular dos cimentos foi baixa tanto para as amostras do Endofill ($\tau = 0,245$), quanto para as amostras do AH Plus ($\tau = 0,226$).

Tabela 1 – Resultados da análise da correlação de Kendall entre MEV e Confocal para a avaliação da interface adesiva dos cimentos Endofill (G1) e AH Plus (G2).

Interface adesiva	Correlação de Kendall	
	p-valor	Coefficiente de correlação (τ)
<i>G1 Endofill</i>	0,000	0,663
<i>G2 AH Plus</i>	0,020	0,362

Tabela 2 – Resultados da análise da correlação de Kendall entre MEV e Confocal para a avaliação da penetração intratubular dos cimentos Endofill e AH Plus.

Penetração intratubular	Correlação de Kendall	
	p-valor	Coefficiente de correlação (τ)
<i>G1Endofill</i>	0,001	0,245
<i>G2AH Plus</i>	0,004	0,226

Com base nos resultados alcançados, a hipótese nula não pode ser totalmente aceita. Na comparação entre o uso de MEV e de Confocal foram verificadas diferenças nas análises realizadas. Os dois métodos foram estatisticamente similares apenas na avaliação da interface adesiva do cimento Endofill. Nas demais análises (interface AH Plus/dentina, penetração do Endofill e penetração do AH Plus nos túbulos dentinários) houve diferenças estatisticamente significantes entre os métodos observacionais utilizados. Apesar disto, quando os cimentos foram comparados entre si os resultados foram concordantes. Ou seja, tanto com o uso de MEV, quanto com o uso de Confocal, a interface cimento/dentina formada pelo AH Plus mostrou-se mais homogênea, com menor presença de *gaps*, e com maior formação e penetração de *tags* de cimento nos túbulos dentinários, do que com o uso do cimento Endofill (Figura 4).

Discussão

No presente estudo, o Confocal e o MEV foram os métodos observacionais selecionados para a análise da interface cimento/dentina formada com o uso de dois cimentos endodônticos, o AH Plus e o Endofill. O objetivo foi comparar a acurácia dos resultados obtidos pelos dois métodos.

As diferenças encontradas quando os métodos observacionais foram comparados na avaliação de cada cimento podem ser explicadas pelos seguintes fatores: diferenças no preparo das amostras em cada método; contraste e qualidade das imagens obtidas; e tipo de cimento utilizado.

As imagens obtidas com MEV evidenciaram a presença de trincas, rachaduras na dentina e *gaps* interfaciais, que não foram

visualizados nas mesmas amostras quando observadas com Confocal. A presença de artefatos pode induzir a interpretações equivocadas como já evidenciado em outros estudos (Carvalho *et al.* 1996, Santini *et al.* 2008, Bitter *et al.* 2009). É importante ressaltar que previamente à análise da interface adesiva com MEV, os espécimes foram submetidos ao processo de fixação, seguido de desmineralização e desproteinização, o que pode danificar a estrutura dentinária (Santini *et al.* 2008). Além desses processos, a secagem, o recobrimento metálico e o alto vácuo ao qual são submetidos os espécimes para o preparo e análise em MEV, também podem ser responsáveis por artefatos e assim modificar a análise em relação a leitura inicial com Confocal (Santini *et al.* 2008). Outro fator a ser considerado é o baixo contraste das imagens proporcionadas por MEV, que dificultam a distinção dos tags de cimentos quando poucos e escassos e, conseqüentemente, a mensuração da penetração intratubular. Entretanto, a análise da interface adesiva observada por MEV no presente estudo foi beneficiada pela melhor visualização topográfica da superfície dentinária que proporciona maior riqueza de detalhes (Tedesco *et al.* 2014).

A análise por Confocal é feita em profundidade na amostra, o que evita a interferência de possíveis artefatos em sua superfície (Bitter *et al.* 2009), e torna desnecessária a remoção da lama dentinária. O alto contraste proporcionado pela fluorescência do cimento permite visualizar com clareza a interface cimento/dentina e os tags de cimentos presentes nos túbulos dentinários (Bitter *et al.* 2009). A possibilidade de visualizar a amostra em várias profundidades e de forma tridimensional torna a mensuração da penetração intratubular mais precisa no Confocal em relação ao MEV, a despeito da necessidade do uso de corantes fluorescentes. O corante fluorescente utilizado no experimento foi a rodamina B 0,1% devido à sua estabilidade de fluorescência (Bitter *et al.* 2009). A ligação entre corante e material ocorre sem ligações químicas e somente através da manipulação (Van Meerbeeck *et al.* 2000, D'Alpino *et al.* 2006, Bitter *et al.* 2009, Heintze *et al.* 2013).

No presente estudo, a interface adesiva do cimento Endofill mostrou similaridade entre as análises realizadas por MEV e Confocal, e ótima concordância entre as duas avaliações, resultado que corrobora com o de Bitter *et al.* 2009. Cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, como o Endofill, apresentam baixa coesão entre suas partículas e baixa resistência de união à dentina radicular o que pode facilitar a ocorrência de gaps, principalmente com o uso de técnicas obturadoras manuais como a compactação lateral (Huffman *et al.* 2009, Tedesco *et al.* 2014). No presente estudo, com o uso do Endofill foi observado formação de tags

curtos e em menor quantidade o que pode ter dificultado a visualização com MEV, pelo menor contraste em relação à dentina, do que quando observado no Confocal.

Cimentos à base de resina epóxica, como o AH Plus, apresentam bom escoamento e boa adaptação à dentina radicular e são considerados o padrão-ouro para a obturação do canal, independentemente da técnica obturadora utilizada (Viapiana *et al.* 2014). Esses cimentos apresentam compostos como o Bisfenol A e F (Santini *et al.* 2008), e são capazes de penetrar em porosidades e reentrâncias dentinárias pré-existentes ou ocasionadas durante o preparo químico-mecânico (Van Meerbeeck *et al.* 1993, Yoshiyama *et al.* 1995, Santini *et al.* 2008). Para o AH Plus, as diferenças encontradas entre as análises realizadas entre MEV e Confocal, para a interface adesiva, podem ser em virtude de esse cimento ter maior escoamento e maior aderência de suas partículas à dentina, o que diminui a quantidade de falhas interfaciais e facilita a visualização com MEV (Viapiana *et al.* 2014).

É importante lembrar que, independentemente do cimento utilizado, a obtenção de uma interface material/dentina e penetração intratubular ideais são difíceis de serem alcançados, mesmo em condições laboratoriais e com criteriosa seleção e padronização dos espécimes. A anatomia do sistema de canais radiculares é repleta de ramificações e istmos que dificultam a limpeza, modelagem e o almejado selamento tridimensional (Weis *et al.* 2004, Moinzadeh *et al.* 2015). A sinuosidade e a alteração de diâmetro dos túbulos dentinários também afetam a penetração dos cimentos endodônticos, independentemente da idade do paciente (Montoya *et al.* 2015).

A comparação entre os métodos observacionais mostrou correlação positiva entre as análises da interface adesiva e penetração intratubular, apesar dos diferentes níveis de correlação. As observações do presente trabalho corroboram com os resultados de McKinlay *et al.* 2004 e Bitter *et al.* 2009. No estudo de McKinlay *et al.* (2004) a eficácia do uso de MEV Ambiental e Confocal foi avaliada quanto à análise do desenvolvimento de interações entre células e materiais. O processamento das células para MEV levou a perda da morfologia celular, que foram preservadas pelo MEV Ambiental. O uso da marcação por Confocal, juntamente com o MEV Ambiental, foi mais preciso na avaliação das alterações das estruturas celulares resultantes das interações entre material e célula. Os autores concluíram que as técnicas foram complementares umas às outras. Bitter *et al.* em (2009), compararam MEV e Confocal na análise da espessura da camada híbrida e número de *tags* formados com compostos resinosos no interior do canal. Os

resultados mostraram correlação forte e positiva entre os métodos observacionais na análise da camada híbrida. Entretanto, a verificação da penetração intratubular mostrou correlação não significativa e baixa contagem de *tags* quando mensurados por MEV. Os autores concluíram que as análises são comparáveis, no entanto o uso de Confocal mostra com maiores detalhes a penetração e distribuição de *tags* do que com MEV.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que o uso de MEV pode proporcionar imagens de alta qualidade na avaliação da interface adesiva (Teixeira *et al.* 2008, Haragushiku *et al.* 2012, Tedesco *et al.* 2014). Porém há limitações no método como a contração sob alto vácuo e produção de artefatos e trincas. O uso de Confocal preserva a integridade das amostras, mas é necessário agregar corantes fluorescentes aos materiais. Ambos os métodos observacionais apresentam vantagens e desvantagens e, por isso, devem ser considerados complementares.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que a análise comparativa entre os métodos observacionais, Confocal e MEV foi similar na análise da interface adesiva do cimento Endofill. Na análise da penetração intratubular dos cimentos, o uso de Confocal permitiu melhor avaliação da profundidade e quantidade de *tags* formados, e o uso de MEV mostrou com maior riqueza de detalhes a interface adesiva e morfologia dos *tags*. Houve diferenças significativas entre os cimentos testados quanto à interface e à penetração intratubular, com melhores resultados para o AH Plus. Houve correlação positiva entre Confocal e MEV na análise da interface adesiva, ótima para o Endofill e baixa para o AH Plus, mas na análise da penetração a correlação entre os métodos, apesar de positiva, foi baixa. Os resultados mostraram que os métodos observacionais devem ser considerados complementares entre si na análise da interface adesiva. No entanto para a análise da penetração intratubular o Confocal apresentou maior acurácia em relação ao MEV.

Referências

- Atmeh AR, Chong EZ, Richard G, Festy F, Watson TF (2012) Dentin-cement interfacial interaction: calcium silicates and polyalkenoates. *Journal of Dentistry* **91**, 454-9.
- Baumgartner G, Zehnder M, Paque F (2007) Enterococcus faecalis type strain leakage through root canals filled with Gutta-Percha/AH plus or Resilon/Epiphany. *Journal of Endodontics* **33**, 45–7.
- Balguerie E, Van der sluis L, Vallaey K, Gurgel-Georgelin M, Diemer F (2011) Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. *Journal of Endodontics* **37**, 1576-9.
- Biggs S, Knowles K, Ibarrola J, Pashley DH (2006) An in vitro assessment of the sealing ability of resilon/epiphany using fluid filtration. *Journal of Endodontics* **32**, 759–61.
- Bitter K, Paris S, Martus P, Schartner R, Kielbassa AMA (2004) Confocal laser scanning microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. *International Endodontic Journal* **37**, 840-8.
- Bitter K, Paris S, Pfuertner C, Neumann K, Kielbassa, AM (2009) Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. *European Journal of Oral Sciences* **117**, 326-33.
- Bitter K, Gläser C, Neumann K, Blunck U, Frankenberger R (2014) Analysis of resin-dentin interface morphology and bond strength evaluation of core materials for one stage post-endodontic restorations. *PLoS One* **9**, 862-94.
- Camilleri J (2015) Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. *Journal of Endodontics* **41**, 72-8.
- Carvalho RM, Yoshiyama M, Brewer PD, Pashley DH (1996) Dimensional changes of demineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. *Archives of Oral Biology* **41**, 379–86.

- Chandra SS, Shankar P, Indira R (2012) Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Journal of Endodontics* **38**, 1412-6.
- D'Alpino PH, Pereira JC, Svezero NR, Rueggelerg FA, Pashley DH (2006) Use of fluorescent compounds in accessing bonded resin based restoration: a literature review. *Journal of Dentistry* **34**, 623-34.
- De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B (2009) Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *Journal Dental Research* **88**, 1101-6.
- Fang J, Mai S, Ling J, Lin Z, Huang X (2012). In vitro evaluation of bond strength and sealing ability of a new low-shrinkage, methacrylate resin-based root canal sealer. *Journal Formosan Medical Association* **111**, 340-6.
- Fernández R, Restrepo JS, Aristizábal DC, Álvarez LG (2015). Evaluation of the filling ability of artificial lateral canals using calcium silicate-based and epoxy resin-based endodontic sealers and two gutta-percha filling techniques. *International Endodontic Journal* **41**, 2025-30.
- Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG (2007) A confocal laser scanning microscopy investigation of epiphany obturation system. *Journal of Endodontics* **33**, 957-61.
- Heintze SD (2013) Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dental Materials* **29**, 59-84.
- Hammad M, Qualtrough A, Silikas N (2008) Extended setting shrinkage behavior of endodontic sealers. *Journal of Endodontics* **34**, 90-3.
- Haragushiku GA, Teixeira CS, Furuse AY, Sousa YT, De Sousa Neto MD, Silva RG (2012) Analysis of the interface and bond strength of resin-based endodontic cements to root dentin. *Microscopy Research and Technique* **75**, 655-61.

- Huffman BD, Mai S, Pinnal, Weller RN, Primus CM, Gutmann JL, Pashley DH, Tay FR (2009) Dislocation resistance of Proroot Endo Sealer, from radicular dentine. *International Endodontic Journal* **42**, 34-46.
- Kim YK, Grandini S, Ames JM, Gu LS, Kim SK, Pashley DH, Gutmann JL, Tay FR (2010) Critical review on methacrylate resin-based root canal sealers. *Journal of Endodontic* **36**, 383-99.
- Machado R, Silva Neto UX, Carneiro E, Fariniuk LF, Westphalen VP, Cunha RS (2014) 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. *Journal of Applied Oral Science* **22**, 22-8.
- Mamootil K, Messer HH (2007) Penetration of dentinal tubules by endodontic sealers cement in extracted teeth and in vivo. *International Endodontic Journal* **40**, 873-81.
- McKinlay KJ, Allison FJ, Scotchford CA, Grant DM, Oliver JM, King JR, Wood JV, Brown PD (2004) Comparison of environmental scanning electron microscopy with high vacuum scanning electron microscopy as applied to the assessment of cell morphology. *Journal of Biomedical Materials Research A* **1**, 359-66.
- Moinzadeh AT, Zerbst W, Boutsoukis C, Shemesh H, Zaslansky P (2015) Porosity distribution in root canals filled with gutta percha and calcium silicate cement. *Dental Materials* **31**, 1100-8.
- Montoya C, Arango-Santander S, Peláez-Vargas A, Arola D, Ossa EA (2015) Effect of aging on the microstructure, hardness and chemical composition of dentin. *Archives of Oral Biology* **60**, 1811-20.
- Okşan T, Aktener BO, Sen BH, Tezel H (1993) The penetration of root canal sealers into dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. *International Endodontic Journal* **26**, 301-5.
- Patel DV, Sherriff M, Ford TR, Watson TF, Mannocci F (2007) The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. *International Endodontic Journal* **40**, 67-71.

- Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S (2012) Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *European Journal of Oral Sciences* **120**, 353-62.
- Profeta AC, Mannocci F, Foxton R, Watson TF, Feitosa VP, De Carlo B, Mongiorgi R, Valdré G, Sauro S (2013) Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin-dentin interfaces. *Dental Materials* **29**, 729-41.
- Reyes-Carmona JE, Felipe M, Felipe WT (2010) The Biom mineralization Ability of Mineral Trioxide Aggregate and Portland Cement on Dentin Enhances the Push-out Strength. *Journal of Endodontics* **36**, 286-91.
- Santos J, Carrilho M, Tervahartiala T, Sorsa T, Breschi L, Mazzoni A, Pashley D, Tay F, Ferraz C, Tjäderhane L (2015) Determination of matrix metalloproteinases in human radicular dentin. *Journal of Endodontics*, **35**, 686-9.
- Santini A, Miletic V (2008) Comparison of the hybrid layer formed by Silorane adhesive, one-step self-etch, etch, and rinse systems using confocal micro-Raman spectroscopy and SEM. *Journal of Dentistry* **36**, 683-91.
- Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M, Watson, TF (2008) Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *European Journal of Oral Sciences* **116**, 184-93.
- Shokouhinejad N, Sabeti M, Gorjestani H, Saghiri MA, Lotfi M, Hoseini A (2011) Penetration of Epiphany, Epiphany Self-Etch, and AH Plus into Dentinal Tubules: A Scanning Electron Microscopy Study. *Journal of Endodontics* **37**, 1316-19.
- Siqueira JF JR, Rôças IN, Lopes HP, De Uzeda, M (1999) Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. *Journal of Endodontics* **25**, 14-6.

- Sly MM, Moore K, Platt JA, Brown CE (2007) Push-out bond strength of a new endodontic obturation system (Resilon/Epiphany). *Journal of Endodontics* **33**, 160-2.
- Tedesco M, Felipe MC, Felipe WT, Alves AM, Bortoluzzi EA, Teixeira CS (2014) Adhesive interface and bond strength of endodontic sealers to root canal dentine after immersion in phosphate-buffered saline. *Microscopy Research and Technique* **77**, 1015-22.
- Teixeira CS, Silva-Sousa YC, Sousa-Neto MD (2008). Effects of light exposure time on composite resin hardness after root reinforcement using translucent fibre post. *Journal of Dentistry* **36**, 520-8.
- Teixeira CR, Alfredo E, Thomé LHC, Gariba Silva R, Silva-Sousa, YTC, Sousa-Neto MD (2009) Adhesion of endodontic sealer to dentin and gutta percha: shear and push-out Bond strength measurements and SEM analysis. *Journal of Applied Oral Sciences* **17**, 129-135.
- Toledano M, Sauro S, Cabello I, Watson T, Osorio R (2013) A Zn-doped etch-and-rinse adhesive may improve the mechanical properties and the integrity at the bonded-dentin interface. *Dental Materials* **29**, 142-52.
- Topçuoğlu HS, Arslan H, Akçay M, Saygılı G, Çakıcı F, Topçuoğlu G (2014) The effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate to root canal dentin. *Journal of Endodontics* **40**, 2041-4.
- Tuncer AK, Tuncer S (2012) Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. *Journal of Endodontics* **38**, 860-3.
- Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G (1993) Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *Journal of Dentistry Research* **72**, 495-501.
- Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Perdigão J, Lambrechts P, et al. (2000) Microscopy investigations, techniques, results, and limitations. *American Journal of Dentistry* **13**, 3D-18D.

- Van strijp AJ, Jansen DC, Degroot J, Ten Cate JM, Everts V (2003) Host derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Research* **37**, 58-65.
- Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru J, Tanomaru-Filho M, Camilleri J (2014) Interface of dentine to root canal sealers. *Journal of Dentistry* **42**, 336-50.
- Watson TF (1989) A Confocal Optical Microscope Study of the Morphology of the Tooth/Restoration Interface using Scotchbond 2 Dentin Adhesive. *Journal of Dentistry* **68**, 1124-31.
- Watson TF (1997) Fact and artefact in confocal microscopy. *Advances Dental Research* **11**, 433-41.
- White JG, Amos WB, Fordham M (1987) An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *Journal of Cell Biology* **105**, 41-8.
- Weis MV, Parashos P, Messer HH (2004) Effect of obturation technique on sealer cement thickness and dentinal tubule penetration. *International Endodontic Journal* **37**, 653-63.
- Yoshiyama M, Carvalho R, Sano H, Horner J, Brewer PD, Pashley DH (1995) Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. *American Journal of Dentistry* **8**, 297-302.
- Zapata RO, Bramante CM, Graeff M, Perochena ADC, Vivan RR, Camargo, EJ, Garcia, RB, Bernardine N, Gutmann JL, Moraes IG (2009) Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: A confocal scanning microscopy study. *Oral Surgery Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **108**, 450-57

3. ARTIGO 2

3.2 Avaliação da resistência de união e da interface adesiva de cimentos endodônticos à dentina radicular por meio de *push-out* e Confocal

Tedesco¹, M; Chain² MC, Teixeira³ CS.

Artigo formatado para Journal of Applied Oral Sciences

Departamento de Odontologia, Endodontia, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

CEP:88040-900-Trindade-Florianópolis (SC) - Brasil

RESUMO

Objetivo: Avaliar e verificar a existência de correlação entre a resistência de união (RU) e a interface adesiva dos cimentos Endofill, AH Plus e MTA Fillapex à dentina radicular por meio do teste *push-out* e da microscopia de varredura a laser confocal (Confocal). **Material e métodos:** Quarenta e cinco pré-molares extraídos de humanos tiveram suas coroas removidas e o comprimento padronizado em 16 mm. Após o preparo endodôntico, irrigação final com EDTA a 17% e NaOCl a 1%, os canais foram secos e obturados com guta-percha associada aos diferentes cimentos (n = 15): Endofill (G1), AH Plus (G2) e MTA Fillapex (G3). Em cinco canais de cada grupo a rodamina B 0,1% foi misturada aos cimentos adicionados de rodamina B 0,1%, para análise por Confocal. Após 07 dias, os espécimes foram seccionados transversalmente em fatias de 1 mm de espessura em diferentes regiões da raiz e submetidos ao teste *push-out* e Confocal. **Resultados:** As médias e desvio padrão (em MPa) dos cimentos foram: Endofill ($2,10 \pm 1,03$), AH Plus ($4,17 \pm 1,86$) e MTA Fillapex ($3,13 \pm 1,96$). A análise dos dados (ANOVA de 2 vias, $\alpha = 0,05$) mostrou diferenças estatisticamente significantes entre grupos ($p < 0,0001$) e entre as regiões (cervical, médio e apical) ($p < 0,001$). Os resultados de RU dos grupos G1 e G3 mostraram similaridade estatística e diferença em relação ao G2. A análise regional da RU não mostrou diferenças estatisticamente significantes entre as regiões média e apical, que foram diferentes da região cervical. A avaliação por Confocal mostrou a formação de *tags* em todos os grupos e maior penetração de cimentos nos espécimes do AH Plus. A correlação (Kendall) entre RU e penetração intratubular não foi significativa ($p > 0,05$) para os cimentos Endofill ($\tau = -0,146$ e p-valor = 0,488), AH Plus ($\tau = -0,144$ e p-valor = 0,518), e MTA Fillapex ($\tau = 0,04$ e p-valor = 0,830). **Conclusão:** O cimento AH Plus mostrou maior RU e formação de *tags* mais profundos do que os cimentos Endofill e MTA Fillapex. Não foi observada correlação entre RU e penetração intratubular nos cimentos testados.

Palavras-Chave: cimentos endodônticos, resistência de união, microscopia confocal, obturação, penetração intratubular.

ABSTRACT

Objective: To evaluate, the bond strength (BS) and adhesive interface of Endofill, AH Plus and MTA Fillapex sealers to root dentine, using push-out test and confocal laser scanning microscopy (Confocal), and verify possible correlation between analysis. **Material and methods:** Forty-five premolars extracted from human had their crowns removed and the length standardized in 16 mm. After endodontic prepare, final irrigation with 17% EDTA and 1% NaOCl, the canals were dried and filled with gutta-percha associated to (n = 15): Endofill (G1), AH Plus (G2) and MTA Fillapex (G3). In five canals of each group the 0.1% rodamine B added to the sealers, for Confocal evaluation. After 07 days, the specimens were cutted transversely into 1 mm thickness slices in different regions of root canal and submitted to push-out test and CLSM. **Results:** The means and standard deviation (in MPa) of the sealers were: Endofill (2.10 ± 1.03); AH Plus (4.17 ± 1.86) and MTA Fillapex (3.13 ± 1.96). The data analysis (2 way-ANOVA, $\alpha = 0.05$) showed statistical differences ($p < 0.0001$) and between regions ($p < 0.001$). The BS results of G1 e and G3 showed statistical similarity and difference related to G2. The regional analysis of BS did not showed statistical differences between the middle and apical regions, both were different from coronal region. The evaluation by Confocal showed formation of tags in all groups and higher penetration in AH Plus specimens. The correlation (Kendall) between BS and penetration was not significant ($p > 0.05$) for Endofill ($\tau = -0.146$ and p-value = 0.488), AH Plus ($\tau = -0.144$ and p-value = 0.518) and MTA Fillapex ($\tau = 0.04$ and p-value= 0.830). **Conclusion:** The AH Plus sealer showed higher BS and many deeper tags formation than Endofill and MTA Fillapex sealers. There were no correlation between BS and intratubular penetration of the tested sealers.

Keywords: endodontic sealers, bond strength, confocal microscopy, intratubular penetration.

INTRODUÇÃO

A finalização do tratamento endodôntico depende do preenchimento tridimensional do sistema de canais radiculares com um material não irritante¹². Para o preenchimento, a guta-percha tem sido rotineiramente o material de escolha, uma vez que possui adequadas propriedades físicas, químicas e biológicas, é flexível e permite o seu uso com diferentes técnicas. Entretanto, como a guta-percha não se adere às paredes do canal, é fundamental o uso de um cimento obturador a fim de preencher os espaços vazios e unir a guta-percha à dentina^{16,21,31,34}.

Apesar dos cimentos endodônticos terem o mesmo objetivo, diferentes composições alteram as suas propriedades físicas e mecânicas e a sua interação com a dentina. Cimentos à base de óxido de zinco e eugenol apresentam baixa resistência à compressão e pouca penetração intratubular^{8,14,16,33}. Cimentos à base de resina epóxica possuem maior capacidade de penetração intratubular e alta aderência à dentina radicular^{2,3,5,16,30,38}. Cimentos à base de agregado trióxido mineral (MTA) também têm sido estudados para verificar se também apresentam capacidade de interagir com a dentina, ao exemplo do que ocorre com o uso de outros materiais à base de silicato de cálcio^{9,10,29,37}, resultando em um processo chamado biomineralização^{1,20,25,35,37,40}.

É importante avaliar e comparar a habilidade dos cimentos endodônticos de penetrar nos túbulos dentinários e a união desses cimentos à dentina radicular. Estudos mostram que o material obturador bem adaptado à dentina, e quando tiver penetrado nos túbulos dentinários, reduz a infiltração de fluídos e bactérias^{23,31}. Além disso, a maior adesão dos cimentos à dentina aumenta a resistência do material obturador ao deslocamento, o que é desejável especialmente em dentes que receberão retentores intrarradiculares¹⁴.

A penetração dos cimentos e a interface entre material obturador e dentina podem ser observadas por diferentes métodos. A microscopia de varredura a laser confocal (Confocal) é uma ferramenta que permite analisar a interface, devido à possibilidade de visualizar claramente, e com poucos artefatos, os *tags* de cimentos presentes nos túbulos dentinários⁶.

Existem muitos estudos relacionados à análise da interface adesiva^{4,13,15,17,18,27,32-35}. Entretanto, poucos fizeram a correlação entre a resistência de união à dentina e a qualidade da interface e profundidade de penetração dos cimentos endodônticos, sendo uma assunto ainda controverso²².

Baseado no exposto, o objetivo deste estudo foi verificar a existência de correlação entre resistência de união à dentina e penetração intratubular de três cimentos endodônticos: Endofill, AH Plus e MTA Fillapex, por meio do teste de resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*) e da análise da interface adesiva com o uso de Confocal. A hipótese nula considerada foi a de que não há correlação entre resistência de união e penetração intratubular, independentemente do cimento testado.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção de dentes e preparo do canal radicular

O projeto deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina para o uso de dentes humanos. Quarenta e cinco pré-molares inferiores foram mantidos em solução de timol de 0,1% a 4°C, pH 7, e usados em até 3 meses após a extração. Os dentes foram radiografados na direção méso-distal e examinados usando-se uma lente de aumento de 4x (Illuminated Magnifying Glass, Tokyo, Japan), para certificar-se a existência de um único canal, sem curvaturas, forame apical completamente formado e ausência de trincas. As coroas foram removidas a 2 mm da junção cimento-esmalte, com um disco diamantado de 0,15 mm em baixa velocidade (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL) e as raízes padronizadas em 16 mm de comprimento. O comprimento de trabalho foi determinado 1mm aquém do forame apical. Os canais foram preparados por um único operador usando-se a técnica coroa-ápice com brocas de Gates Glidden #4 a #2 (Union Broach, York, PA), e instrumentos rotatórios (ProTaper Universal; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) até o F5. A patência do forame apical foi mantida com instrumento FlexoFile #15 (Dentsply Maillefer). Os canais foram irrigados com 2 mL de NaOCl a 2% entre cada instrumento ou broca. Após a irrigação final com 3 mL de EDTA 17% e 3 mL de NaOCl 1%, os canais foram secos com pontas de papel absorventes.

As raízes foram distribuídas aleatoriamente e divididas em três grupos (n = 15), de acordo com o cimento endodôntico associado a guta-percha na obtenção: Grupo 1, Endofill (Dentsply, Petrópolis, Brasil); Grupo 2, AH Plus (Dentsply DeTrey, Konstanz, Germany); Grupo 3, MTA Fillapex (Angelus, Londrina, Brasil) conforme exposto na Tabela 1. Em cinco amostras de cada grupo, os canais foram preenchidos com guta-percha associada aos cimentos adicionados de rodamina B 0,1% durante a manipulação, permitindo a avaliação por Confocal. A obtenção

foi realizada usando-se cones principais e acessórios (Dentsply Maillefer) por meio da técnica da compactação lateral. Após a compactação vertical e selamento com material provisório (Citodur; Dorident, Vienna, Áustria), as raízes de cada grupo foram mantidas em água destilada por 07 dias a 37°C, para assegurar a presa dos cimentos.

TABELA 1- Cimentos endodônticos usados nos procedimentos experimentais, com seus respectivos fabricantes, composição e lote de fabricação.

<i>Cimentos (Fabricantes)</i>	<i>Composição</i>	<i>Lote de fabricação</i>
Endofill (Denstply Ind. e Com., Petrópolis, Brasil)	Óxido de zinco; resina hidrogenada, subcarbonato de bismuto, sulfato de bário, borato de sódio, eugenol e óleo de amêndoa doces.	365439C
AH Plus (Denstply DeTrey, Konstanz, Germany)	Pasta A: Bisfenol-F e A, resina epóxica, Tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, pigmentos de ferro. Pasta B: Dibenzildiamina, Aminoadamantana, Triciclododecanediamina, Tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica e óleo de silicone.	0705000020
MTA Fillapex (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Brasil)	Salicilato resinoso, diluente de resina, resina natural, óxido de bismuto, sílica nanoparticulada, MTA e pigmentos.	16832

Teste de Push-out

As raízes foram seccionadas perpendicularmente ao seu longo eixo em uma máquina de cortes (Isomet 1000), com disco diamantado (Buehler, Lake Forest, IL, E.U.A), com baixa velocidade e sob refrigeração. Foram obtidas duas fatias de 1,0 mm de espessura para cada região da raiz (cervical, média e apical). Uma fatia de cada região da raiz foi usada no *push-out* (n = 30), sendo as resultantes das cinco raízes adicionadas de rodamina B foram observadas por Confocal.

O *push-out* foi realizado aplicando-se uma carga no sentido apical de cada fatia usando-se um pino cilíndrico de 1.0 mm de diâmetro acoplado a uma porção superior da máquina Instron (Instron 4444, Canton, USA), com uma velocidade de cruzeta de 0,5 mm/min. Para expressar a resistência de união em megapascals (MPa), a carga para cada falha foi anotada em quilonewton (kN), transformada em Newton (N) e então dividida pela área lateral (SL) do preenchimento do canal radicular, em mm². A SL foi calculada pela equação do tronco de cone $SL = \pi(R+r)[h^2 + (R-r)^2]^{1/2}$, onde: R é a média do raio cervical do canal, r é o raio médio da apical do canal e h é a altura relativa a fatia em mm.

Avaliação dos modos de falhas

Para a análise das fraturas e áreas de desprendimento foram examinadas com um estereomicroscópio usando-se aumentos de 20x a 40x (SZ60; Olympus, Tokyo, Japan). As falhas foram classificadas de acordo com critérios estabelecidos em estudos prévios³⁶: falha adesiva, se o cimento estava totalmente separado da dentina; falha coesiva, se a fratura ocorreu no material, com a dentina remanescente coberta de cimento, e falha mista, quando houve a ocorrência simultânea de ambas as falhas anteriormente descritas.

Microscopia Confocal

Quinze fatias para cada um dos três grupos, as quais não foram submetidas ao *push-out*, foram observadas por microscopia Confocal. As amostras foram posicionadas em fita aderente dupla-face com o lado a ser observado voltado para baixo e então fixadas em resina epóxica. Após 24 h, os espécimes foram polidos em uma máquina com lixas de polimento de granulação decrescentes (até 1200) e com panos e pastas de alumina de 0,3 µm e 0,1 µm, sob irrigação constante com água. Ao final, cada fatia foi lavada com água em cuba ultrassônica, por 10 min, seca em estufa a 37°C e então fixada sobre lâmina histológica com lamínula e cola. As amostras foram analisadas por microscópio CLSM (Leica DMI6000 B Microscope, Germany). As fotomicrografias em alta magnificação foram obtidas no modo fluorescente com aumentos de 100x e 400x (Figura 4). Para a presença, quantidade e profundidade de penetração dos cimentos endodônticos nos túbulos dentinários (*tags*) os seguintes escores foram atribuídos: 0 - para ausência de *tags*, 1 - para *Tags* < 20 µm (curtos e em pouca quantidade), 2- *tags* com comprimentos entre 20 a 100 µm e em maior quantidade, e 3 - *tags* >100 µm, longos e em grande quantidade³⁵.

A avaliação por microscópio CLSM foi realizada por dois diferentes avaliadores. Em caso de discrepância, a análise foi revista até a existência de consenso entre os avaliadores.

Correlação entre resistência de união e penetração intratubular

A análise da correlação foi realizada pela associação entre resistência de união em MPa e escores de penetração intratubular.

Análise Estatística

Os dados foram analisados estatisticamente usando-se o software SPSS 21.0 para Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). A homogeneidade e normalidade dos dados foram verificados por Levene e Kolmogorov-Smirnov, respectivamente. Os dados resultantes do teste de *push out* foram analisados estatisticamente pelos testes de Análise de Variância (ANOVA) de duas vias e teste de Tukey para comparações múltiplas *post hoc*. Os dados resultantes da análise por Confocal foram avaliados pelos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Para avaliar a correlação entre os dados de resistência de união e penetração intratubular foi aplicado o teste de correlação de Kendall. O nível de significância considerado nos testes foi de 5%.

RESULTADOS

Push-out

Os valores médios (MPa) da resistência de união dos cimentos avaliados estão expostos na Tabela 2 (comparação entre os cimentos) e Figura 1 (comparação entre cimentos e regiões/terços do canal). O teste de ANOVA 2-vias revelou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos Endofill, AH Plus e MTA Fillapex ($p < 0,001$) e nas regiões da raiz ($p < 0,001$). De modo geral, o cimento AH Plus mostrou maiores valores de RU do que os outros cimentos testados neste estudo, principalmente nas regiões cervical e apical. Os baixos valores de RU foram observados nas amostras dos cimentos Endofill e MTA Fillapex. Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as regiões avaliadas (cervical, média e apical) somente para as amostras dos cimentos AH Plus e MTA Fillapex (Fig 1).

Os modos de falhas estão ilustrados na Figura 2. Houve predominância de falhas coesivas nos cimentos AH Plus (90%) e MTA Fillapex (63,3%) e com menor frequência o Endofill (40%). As falhas adesivas foram mais observadas no grupo do cimento Endofill (56%) e MTA Fillapex (36,7%) e com menor frequência no cimento AH Plus (10%). Falhas mistas ocorreram somente nas amostras do Endofill (4%).

TABELA 2 – Médias (MPa), Desvio Padrão (DP) e Erro (E) da resistência de união dos cimentos testados após o teste de *push-out* independentemente da região.

Cimentos	Médias*	DP	E
Endofill	2,30 ^a	1,03	0,19
AH Plus	4,17 ^b	1,86	0,31
MTA Fillapex	3,13 ^a	1,96	0,34

*Letras sobrescritas diferentes indicam diferença significativa entre os grupos. Teste de ANOVA e *post hoc* Tukey, $\alpha= 5\%$.

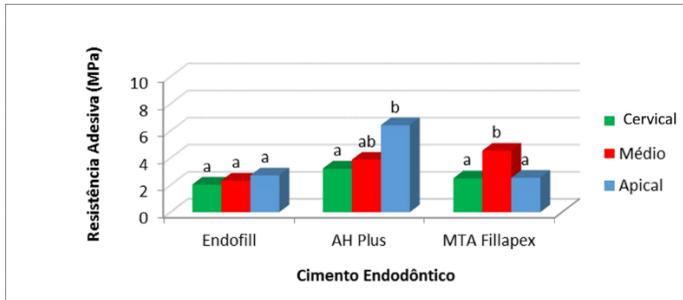


Figura 1 - Representação gráfica da resistência de união em MPa, para comparação dos cimentos endodônticos e regiões (terços do canal) (cervical, médio e apical). Letras sobscritas diferentes indicam diferença significativa entre as regiões dentro de cada cimento. Teste de ANOVA e *post hoc* Tukey, $\alpha=5\%$.

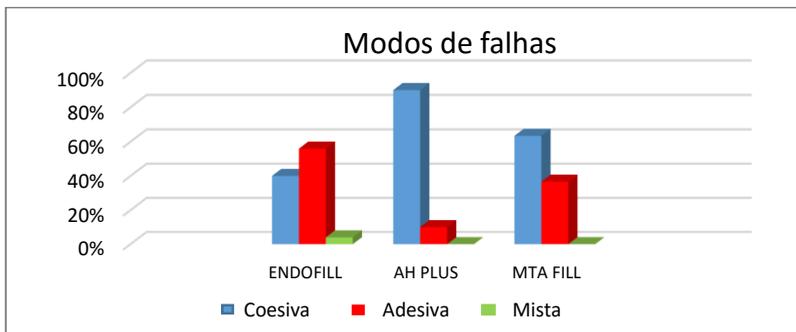


Figura 2 - O gráfico mostra a avaliação das falhas por porcentagem (%). O AH Plus teve maior quantidade de falhas coesivas (90%) seguidas pelo MTA Fillapex (63,3%) e Endofill (40%). Falhas adesivas foram observadas na maioria das amostras do Endofill (56%) e MTA Fillapex (36%). Falhas mistas foram presentes somente nas amostras do Endofill (4%).

Avaliação da penetração dos cimentos

Os resultados após a análise das imagens obtidas por Confocal da penetração dos cimentos nos túbulos dentinários estão expostos nas Figuras 3 e 4. A análise estatística por Kruskal Wallis e Mann Whitney revelou maior qualidade e quantidade de *tags* densos e longos (escore 3, $\geq 100 \mu\text{m}$) nos espécimes do cimento AH Plus ($p < 0,05$), mostrando maior penetração intratubular do que a que ocorreu nos espécimes do Endofill ou do MTA Fillapex, os quais foram estatisticamente similares entre si ($p > 0,05$).

A comparação entre as regiões/terços do canal (cervical, médio e apical) dentro de cada grupo, não mostrou diferenças estatisticamente significativas na penetração dos cimentos nos túbulos dentinários (Figura 3, $p > 0,05$).

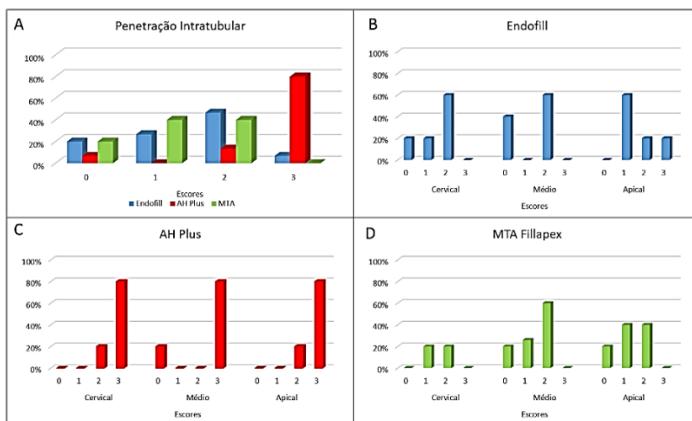


Figura 3 - Resultados da avaliação da penetração dos cimentos nos diferentes grupos (G1, Endofill; G2, AH Plus; e G3, MTA Fillapex). A- Porcentagem dos escores obtidos para cada cimento, independentemente da região analisada. B, C e D- Porcentagem de escores de cada cimento em cada região analisada (cervical, média e apical) dos cimentos Endofill, AH Plus e MTA Fillapex. Escores: 0, ausência de *tags*; 1, *tags* $< 20 \mu\text{m}$ (curtos e em pouca quantidade); 2, *tags* com comprimentos entre 20 a $100 \mu\text{m}$ e em maior quantidade; e 3, *tags* $> 100 \mu\text{m}$, longos e em grande quantidade.

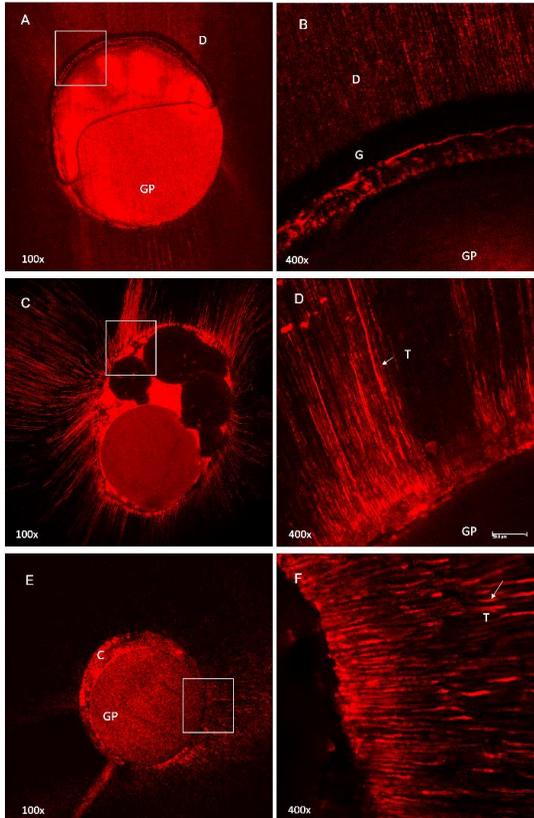


Figura 4: Imagens obtidas por Confocal e representativas da adaptação e penetração intratubular dos cimentos nos grupos experimentais: G1, Endofill, (A) e (B); G2, AH Plus, (C) e (D); e G3, MTA Fillapex, (E) e (F). (A) Imagem da região média do canal de espécime obturado com Endofill (100x). (B) Maior aumento (400x) da área demarcada em (A). É possível observar a presença de *gaps* (G) entre a gutapercha e a dentina. Uma pequena quantidade de *tags* pode ser vista. (C) Imagem representativa da interface do cimento AH Plus com a dentina (100x). (D) Maior aumento (400 x) da área demarcada em (C) mostrando a presença de *tags* longos e em maior quantidade. (E) Imagem representativa dos espécimes obturados com MTA Fillapex (100x). (F) Em maior aumento (400x) nota-se a presença de *tags* longos (seta). C- Cimento; GP: gutapercha; G: *gaps*, D: dentina; T: *tags* de cimento.

Correlação entre resistência de união e penetração intratubular

A análise da correlação entre resistência de união e penetração intratubular está exposta na Tabela 3. A análise por Kendall não mostrou correlação entre a resistência de união e penetração intratubular no interior dos túbulos dentinários para todos os cimentos testados ($p > 0,05$).

TABELA 3 – Coeficiente de correlação (Kendall) e p-valor da correlação entre resistência de união (RU) e penetração intratubular.

Cimentos	Coeficiente de correlação	p-Valor
Endofill	-0,146	0,488
AH Plus	-0,144	0,518
MTA Fillapex	0,046	0,830

DISCUSSÃO

A resistência de união o teste *push-out* foi averiguada pelo teste de *push-out* por ser um método confiável devido a sua acurácia^{14,16}. Por meio de finas fatias da raiz, a análise regional pode ser realizada⁸ a fim de identificar possíveis diferenças entre os cimentos e regiões.

Está bem estabelecido que a adesão é um processo complexo e que depende de interações físicas e químicas entre as moléculas presentes nos materiais e nas paredes dentinárias²⁸. No presente estudo foram utilizados diferentes tipos de cimentos endodônticos, com composições distintas e, conseqüentemente, propriedades físicas e químicas diversas²³. Maiores valores de resistência de união foram obtidos com o uso do cimento AH Plus, que se mostraram estatisticamente diferentes dos demais cimentos utilizados (Tabela 2). Estes resultados corroboram com os de outros estudos que confirmam a excelência deste material^{26,33}. O AH Plus é composto de resina epóxica e aminas. A resina epóxica reage com o colágeno da dentina formando uma ligação covalente com ela²¹, o que pode ajudar positivamente os valores de resistência de união deste cimento.

A resistência de união dos cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (Endofill) e de cimentos à base de agregado trióxido mineral, tal como o MTA Fillapex mostraram ser estatisticamente similares entre si, e inferiores ao cimento à base de resina epóxica²⁴. Os cimentos com base

zinco-enólica são extensamente utilizados em procedimentos clínicos, a despeito de sua conhecida baixa adesão à dentina^{2,8,14,16,34}. O MTA Fillapex tem em sua composição o MTA (Tabela 1). Materiais à base de silicato de cálcio como o MTA, têm sido usados para selar perfurações e têm mostrado serem biocompatíveis e bioativos *in vivo* e *in vitro*^{2,25,29}. Contudo, baixos valores de resistência de união do cimento MTA Fillapex têm sido relatados em vários estudos^{26,30,35,37}, inclusive inferiores à resistência de união do próprio MTA à dentina³⁷. A adição de outros componentes ao cimento MTA Fillapex, a fim de torná-lo mais plástico e permitir o seu uso como cimento obturador do canal, pode ter afetado as propriedades físicas e mecânicas do mesmo, e ter reduzido a resistência de união à dentina^{7,38}.

Os resultados da análise regional do presente estudo corroboram com os de Sagsen et al.³⁰ (2011) e de Sly et al.³⁴ (2007). Maiores valores de resistência de união foram encontrados nas regiões dos terços médio e apical. Estes resultados possivelmente estão relacionados com as forças realizadas pela compactação lateral durante a obturação^{30,31}. Tais forças aumentam a resistência friccional do material com as paredes do canal e, conseqüentemente, contribuem na adesão com as paredes dentinárias^{14,15,26,33}.

As falhas avaliadas mostraram maior frequência do tipo coesivas nos cimentos AH Plus (90%) e MTA Fillapex (63,37%). A alta resistência de união destes cimentos à dentina e a maior penetração intratubular podem explicar tal ocorrência^{21,33}. As falhas adesivas foram encontradas com maior frequência nas amostras do cimento Endofill (56%) devido à sua baixa resistência de união à dentina^{1,16}.

A penetração intratubular dos cimentos nos túbulos foi observada por microscopia Confocal devido à possibilidade de se avaliar a dentina em profundidade. Além disso, a fluorescência da rodamina quando adicionada aos cimentos permite a visualização clara da presença de *tags* e a mensuração dos seus comprimentos mais facilmente do que com o uso de outras técnicas de microscopia^{1,6,7,8}. Neste estudo, o cimento à base de resina epóxica teve maior penetração intratubular quando comparado aos demais, fato também observado em outros estudos comparativos^{22,23,28,30}.

A falta de correlação entre a penetração intratubular e a resistência de união tem sido questionada e foi previamente descrita por Machado et al.²²(2014). Os pesquisadores avaliaram possíveis correlações entre penetração intratubular, adesão e infiltração apical em canais preenchidos com guta-percha e cimentos à base de resina epóxica. Foram realizados testes de infiltração em sessenta incisivos centrais inferiores que, posteriormente, foram seccionados transversalmente em

fatias e avaliados com estereomicroscópio quanto à penetração intratubular no terço médio. Após a análise microscópica, as fatias foram submetidas ao teste *push-out*. A análise de dados por Pearson mostrou que não houve correlação entre as variáveis estudadas ($p > 0,05$). Foi concluído que não há correlação entre resistência de união, penetração intratubular dos cimentos e infiltração apical.

A análise da correlação é aplicada para verificar o quanto as duas variáveis, resistência de união e penetração intratubular, estão relacionadas. Neste estudo o teste não paramétrico de Kendall foi utilizado pois os valores correspondentes à penetração intratubular foram apresentados por categorias, os escores¹¹.

Apesar da ausência de correlação entre as variáveis, é conhecido que a penetração dos cimentos nos túbulos pode ser considerada benéfica. A presença de cimento dentro dos túbulos dentinários funciona como uma barreira física que aumenta o imbricamento mecânico e o efeito antibacteriano do material^{23,39}.

O uso de Confocal no presente estudo permitiu a visualização de *tags* densos e longos presentes principalmente nas amostras do cimento à base de resina epóxica. Este método observacional é utilizado em estudos sobre materiais adesivos à dentina devido ao alto contraste e facilidade de observação dos cimentos no interior dos túbulos dentinários^{1,8,19}. Além disso, o fato de preservar a amostra e possibilitar a visualização posterior com outros tipos de microscopia, tornam o Confocal um método observacional vantajoso. Entretanto, novos estudos são necessários a fim de avaliar a influência do acréscimo de corantes fluorescentes, como a rodamina B, nas propriedades físico-químicas dos materiais avaliados por esta metodologia.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode ser concluído que o cimento endodôntico à base de resina epóxica apresentou maior resistência de união e penetração intratubular do que os demais cimentos testados. Considerando as diferentes composições e propriedades de cada cimento. Não houve correlação entre a resistência de união e a penetração intratubular.

REFERÊNCIAS

1. Amoroso-Silva PA, Guimarães BM, Marciano MA, Duarte MA, Cavenago BC, Ordinola-Zapata R, De Almeida MM, De Moraes IG. Microscopic analysis of the quality of obturation and physical properties of MTA Fillapex. *Microsc Res Tech.* 2014;77(12):1031-6.
2. Assmann E, Böttcher DE, Hoppe CB, Grecca FS, Kopper PM. Evaluation of bone tissue response to a sealer containing mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2015;41(1):62-6.
3. Assmann E, Scarparo RK, Böttcher DE, et al. Dentin bond strength of two mineral trioxide aggregate-based and one epoxy resin-based sealers. *J Endod.* 2012;38(2):219–21.
4. Aktener BO, Cengiz T, Pişkin B. The penetration of smear material into dentinal tubules during instrumentation with surface-active reagents: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 1989;15(12):588-90
5. Balguerie E, Van Der Sluis L, Vallaey K, Gurgel-Georgelin M, Diemer F. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 2011;37(11):1576-9.
6. Bitter K, Gläser C, Neumann K, Blunck U, Frankenberger R. Analysis of resin-dentin interface morphology and bond strength evaluation of core materials for one stage post-endodontic restorations. *PLoS One.* 2015;9(2):862-94.
7. Bitter K, Paris S, Pfuertner C, Neumann K, Kielbassa AM. Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. *Eur J Oral Sciences.* 2009;117(3):326-33.
8. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. *J Endod.* 2012;38(10):1412-6.
9. De-Almeida J, Felipe MC, Bortoluzzi EA, Teixeira CS, Felipe WT. Influence of the exposure of MTA with and without calcium chloride to phosphate-buffered saline on the push-out bond strength to dentine. *Int Endod J.* 2014;47(5):449-53.
10. Dreger LA, Felipe WT, Reyes-Carmona JF, Felipe GS, Bortoluzzi EA, Felipe, MC. Mineral trioxide aggregate and Portland cement promote biomineralization in vivo. *J Endod.* 2012;38(3):324-9.

11. Field, A (2009) *Correlações. Descobrendo a Estatística Utilizando o Spss. 2ªed.*;pp.384,Brasil, BR: Rio de Janeiro.
12. Gillen BM, Looney SW, Gu LS, Loushine BA, Weller RN, Loushine RJ, Pashley DH, Tay FR. Impact of the quality of coronal restoration versus the quality of root canal fillings on success of root canal treatment: a systematic review and meta-analysis. *J Endod.* 2011;37(7):895–902.
13. Ghoddusi J, Dibaji F, Marandi S. Correlation between sealer penetration and microleakage following the use of MTAD as a final irrigant. *Aust Endod J.* 2010;36(3):109-13.
14. Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A et al. The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. *Eur J Oral Sci.* 2004;112(4):353–61.
15. Haragushiku GA, Teixeira CS, Furuse AY, Sousa YTS, Sousa-Neto MD, Silva RG. Analysis of the interface and bond strength of resin based endodontic cement to root dentine. *Micro Res Tech.* 2012;75(5):655–61.
16. Huffman BD, Mai S, Pinnal Weller RN, Primus CM, Gutmann JL, Pashley DH, Tay FR. Dislocation resistance of ProRoot Endo Sealer, from radicular dentine. *Int Endod J.* 2009;42:34–46.
17. Kokkas AB, Boutsoukias ACh, Vassiliadis LP, Stavrianos CK. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod.* 2004;30(2):100-2.
18. Kouvas V, Liolios E, Vassiliadis L, Parissis-Messimeris S, Boutsoukias A. Influence of smear layer on depth of penetration of three endodontic sealers: an SEM study. *Endod Dent Traumatol.* 1998;14(4):191-5.
19. Kim H, Kim E, Lee SJ, Shin SJ. Comparisons of the Retreatment Efficacy of Calcium Silicate and Epoxy Resin-based Sealers and Residual Sealer in Dentinal Tubules. *J Endod.* 2015;41(12):2025-30.
20. Kuga MC, Duarte MA, Sant'anna-Júnior A, Keine KC, Faria G, Dantas AA, Guiotti FA. Effects of calcium hydroxide addition on the physical and chemical properties of a calcium silicate-based sealer. *J Appl Oral Sci.* 2014;22(3):180-4.
21. Lee KW, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentine and gutta-percha. *J Endod.* 2002;28(10):684–8.

22. Machado R, Silva Neto UX, Carneiro E, Fariniuk LF, Westphalen VP, Cunha RS. 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.* 2014;22(1):22-8.
23. Mamootil K, Messer HH. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *Int Endod J.* 2007;40(11):873-1.
24. Manicardi CA, Versiani MA, Saguy PC, Pecora JD, Sousa-Neto MD. Influence of filling materials on bonding interface of thin walled root reinforced with resin and quartz-fiber posts. *J Endod.* 2011;37(4):531-37.
25. Mestieri LB, Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based endodontic sealers in human dental pulp cells. *J Appl Oral Sci.* 2015, 23(5):467-71.
26. Nagas E, Uyanik MO, Eymirli A, Cehreli ZC, Vallittu PK, Lassila LV, Durmaz V. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. *J Endod.* 2012;38(2):240-4.
27. Neelakantan P, Subbarao C, Subbarao CV, De-Deus G, Zehnder M. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. *Int Endod J.* 2011;44(6):491-8.
28. Okşan T, Aktener BO, Sen BH, Tezel H. The penetration of root canal sealers into dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. *Int Endod J.* 1993;26(5):301-5.
29. Reyes-Carmona JE, Felipe M, Felipe WT. The biomineralization ability of mineral trioxide aggregate and Portland cement on dentine enhances the push-out strength. *J Endod.* 2010;36(10):286-91.
30. Sagsen B, Ustun Y, Demirbuga S, Pala K. 2011. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. *Int Endod J* 2011; 44(12):1088-91.
31. Saleh, IM, et al. Adhesive of Endodontic Sealers: Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive Spectroscopy. *J Endod.* 2003; 29(9):595-601.
32. Sen BH, Pişkin B, Baran N. The effect of tubular penetration of root canal sealers on dye microleakage. *Int Endod J.* 1996;29(1):23-8.

33. Shokouhinejad N, Sabeti M, Gorjestan I H, Saghir MA, Lofti M, Hoseini A. Penetration of epiphany, epiphany self-etch, and AH plus into dentinal tubules: A scanning electron microscopy study. *J Endod.* 2011;37(9):1316–19.
34. Sly MM, Moore K, Platt JA, Brown CE. Push-out bond strength of a new endodontic obturation system (Resilon/Epiphany). *J Endod.* 2007;33(2):160–2.
35. Tedesco M, Felipe MC, Felipe WT, Alves AM, Bortoluzzi EA, Teixeira CS. Adhesive interface and bond strength of endodontic sealers to root canal dentine after immersion in phosphate-buffered saline. *Microsc Res Tech.* 2014;77(12):1015–22.
36. Teixeira CR, Alfredo E, Thomè LHC, Gariba Silva R, Silva-Sousa, YTC, Sousa-Neto, MD. Adhesion of endodontic sealer to dentin and gutta percha: shear and push-out Bond strength measurements and SEM analysis. *J Appl Oral Sciences.* 2009;17(2):129–35.
37. Oliveira DS, Cardoso ML, Queiroz TF, Silva EJ, Souza EM, De-Deus G. Suboptimal push-out bond strengths of calcium silicate-based sealers. *Int Endod J.* 2015;13. Epub ahead of print.
38. Vilanova WV, Carvalho-Junior JR, Alfredo E, Sousa-Neto MD, Silva-Sousa YTC. Effect of intracanal irrigants on the bond strength of epoxy resin based and methacrylate resin based sealers to root canal walls. *Int Endod J.* 2012;45(1):42–8.
39. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dentin extends the antibacterial effect of endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2014;40(4):505–8.
40. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod.* 2013;39(10):1281–6.

3. ARTIGO 3

3.3. Avaliação do efeito da incorporação de rodamina B nas propriedades físico-químicas dos cimentos endodônticos AH Plus e MTA Fillapex

Tedesco¹, M; Chain² MC, Teixeira³ CS.

Artigo formatado para o International Endodontic Journal

Departamento de Odontologia, Endodontia, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

CEP:88040-900-Trindade-Florianópolis (SC) - Brasil.

Resumo

Objetivo Avaliar o efeito da incorporação de rodamina B na resistência de união e nas propriedades físico-químicas dos cimentos AH Plus e MTA Fillapex.

Material e métodos Trinta dentes de humanos foram seccionados transversalmente em fatias de 1 mm de espessura. As fatias tiveram o espaço do canal ampliado com brocas de preparo para pino calibre #2 e foram imersas em NaOCl 1%, por 2 min e EDTA 17%, por 2 min. Secas, foram divididas em 6 grupos (n = 15) de acordo com o preenchimento do espaço do canal: Grupos Controle (cimentos sem adição de rodamina B) (GC), MTA Fillapex (GC_{Fill}) e AH Plus (GC_{AH}); G1_{Fill} e G1_{AH} (adicionados de rodamina B grãos); G2_{Fill} e G2_{AH} (adicionados de rodamina B diluída). Após a presa, foi realizado o teste de *push-out* e as falhas avaliadas. Os testes físicos-químicos de escoamento, tempo de presa, solubilidade e pH foram realizados de acordo com as normas da ISO e ADA (2012). Os dados paramétricos foram submetidos aos testes de ANOVA e Tukey e os não paramétricos aos testes de Kruskal-Wallis e Mann Whitney ($\alpha = 5\%$).

Resultados A análise estatística dos resultados mostrou que a incorporação de rodamina B no cimento MTA Fillapex e AH Plus promoveu alterações estatisticamente significantes ($p < 0,05$) quando comparados aos respectivos grupos controle (GC_{Fill} e GC_{AH}). A rodamina B em pó adicionada ao AH Plus diminuiu a resistência de união à dentina, aumentou o tempo de presa e reduziu o pH após 07 dias e 30 dias. No cimento MTA Fillapex houve o aumento do escoamento e redução do pH após 30 dias. A adição da rodamina diluída no cimento AH Plus promoveu aumento da solubilidade após 07 dias e redução de pH nos períodos de 24h, 07 e 30 dias. No cimento MTA Fillapex houve redução no tempo de presa e redução de pH após 30 dias.

Conclusão A adição da rodamina B na forma diluída e em pó afetou as propriedades físicas e químicas dos cimentos. O cimento AH Plus apresentou redução da RU à dentina, aumento do tempo de presa, aumento de solubilidade após 07 dias e redução de pH. O MTA Fillapex apresentou alterações no escoamento, redução do tempo de presa e pH.

Palavras-Chave: propriedades físico-químicas; cimentos endodônticos; corantes fluorescentes; microscopia confocal; rodamina B.

Abstract

Aim To evaluate the effect of the incorporation of rhodamine B on the physical-chemical properties of AH Plus and MTA Fillapex sealer.

Methodology Thirty teeth from human were sectioned transversely into 1 mm thickness slices. The slices had the space of the root canal expanded with preparation drills to gauge pin # 2. And were immersed into 1% NaOCl, for 2 min and 17% EDTA, for 2 min. Dried, were divided in 6 groups (n = 15) and the space of the canal filled: Control group (sealers without the addition of rhodamine B) Group C_{Fill} (MTA Fillapex) and Group C_{AH} (AH Plus); G1_{Fill}- and G1_{AH}- (added with rhodamine in grains); G2_{Fill}- and G2_{AH} (added with rhodamine B). After the setting time, was performed the push-out test and the failures evaluated. The physical-chemical tests of flow, setting time, solubility and pH followed ISO and ADA (2012) rules. The parametric data were submitted to ANOVA, Tukey and the non-parametric to Kruskal-Wallis and Mann Whitney tests ($\alpha = 5\%$).

Results The statistical analysis of the data showed that the addition of rhodamine B in the MTA Fillapex and AH Plus promoted significant statistical changes when compared to the respective control groups (G_{C_{Fill}} e G_{C_{AH}}). The rhodamine B in grains added to AH Plus reduced the bond strength to dentin, increased the setting time and reduced the pH after 07 and 30 days. In the MTA Fillapex had an increase of the flow and reduced the pH after 30 days. The addition of rhodamine diluted to AH Plus increased the solubility after 07 and reduced the pH at 24 h, 07 and 30 days. In MTA Fillapex there was the reduction of setting time and pH after 30 days.

Conclusion The addition of rhodamine B in the diluted or in grains affected the physical and chemical properties of the sealers. The AH Plus showed reduction of the BS to dentin, increase of the setting time, increase of the solubility after 07 days and reduction of pH. The MTA Fillapex showed changes in the fluidity, reduction of the setting time and pH.

Keywords: physical-chemical properties, endodontic sealers, fluorescent dyes, Confocal microscopy, rhodamine B.

Introdução

A análise da interface de união dos materiais obturadores às paredes do canal radicular pode ser realizada por diversos métodos de microscopia. A microscopia de varredura a laser confocal (Confocal) é um método que, além de necessitar de preparo simplificado das amostras, permite a visualização da interface material obturador/dentina e da penetração dos cimentos nos túbulos dentinários, com precisão e ocorrência de poucos artefatos (Santini *et al.* 2008, Bitter *et al.* 2009). Microscopias de fluorescência, como a Confocal e a microscopia de fluorescência de dois-fótons, consistem na presença de um feixe de alta energia (laser) e um feixe infravermelho, respectivamente (Diaspro *et al.* 2000, Bitter *et al.* 2004, Bitter *et al.* 2009, Bitter *et al.* 2014). Esses métodos observacionais permitem a análise das amostras e as mantém integras, permitindo outras análises se necessário.

O uso do Confocal facilita a observação detalhada de todas as paredes do canal radicular (D'Alpino *et al.* 2006, Gharib *et al.* 2007, Patel *et al.* 2007). Porém, a obtenção das imagens pelo varrimento a laser somente é possível com o acréscimo de corantes fluorescentes aos materiais que serão estudados (D'Alpino *et al.* 2006, Gharib *et al.* 2007, Patel *et al.* 2007, Sauro *et al.* 2008, Zapata *et al.* 2009, Bitter *et al.* 2009, Chandra *et al.* 2012, Profeta *et al.* 2012, Profeta *et al.* 2013, Toledano *et al.* 2013). Quando os corantes são associados homoganeamente ao material permitem a visualização de falhas, áreas de adaptação dos cimentos ou adesivos à dentina, e penetração dos materiais nos túbulos dentinários (Araújo *et al.* 2013). A fluorescência emitida pelos corantes baseia-se na capacidade de absorção de energia radiante em determinados comprimentos de onda. Após a absorção há a transformação desta energia em fótons de comprimentos maiores na região visível do espectro. Ao serem excitados por uma luz apropriada, os corantes fluorescentes mostram a interface adesiva marcada na cor do corante utilizado (Bim *et al.* 2013).

Até o momento, o acréscimo de corantes aos materiais estudados tem sido realizado de forma relativamente empírica (D'Alpino *et al.* 2006). Estudos envolvendo o uso de rodamina B apontam que concentrações de 0,1% são eficientes para a obtenção de imagens com Confocal (D'Alpino *et al.* 2006, Bitter *et al.* 2009). Entretanto, alguns experimentos têm verificado a interferência do corante nas propriedades físicas e químicas do material ao qual foi adicionado (D'Alpino *et al.* 2006, Fernández *et al.* 2009, Araújo *et al.* 2013). A excessiva adição de corantes fluorescentes, por exemplo, pode interferir na emissão de

fluorescência, gerando um efeito chamado fotobranqueamento (Watson *et al.* 1997). Além disso, a presença de corante no material resinoso pode dificultar a conversão de monômeros em polímeros (Rozenberg *et al.* 1985, D'Alpino *et al.* 2006, Fernández *et al.* 2009) e possivelmente alterar o processo de cura desses materiais.

Devido ao frequente uso de fluorescentes em estudos com materiais é importante que os efeitos da incorporação desses compostos sejam verificados. Diante do conhecimento exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a resistência de união (RU) à dentina radicular e as propriedades físico-químicas dos cimentos endodônticos AH Plus e MTA Fillapex, com e sem a adição da rodamina B.

Materiais e Métodos

Os testes realizados para avaliar os efeitos da adição da rodamina B aos cimentos endodônticos seguiram as normas da ANSI/ADA Standard nº 57 e ISO 6876. Os testes foram realizados em laboratórios com temperatura média de 25°C controlada por ar condicionado. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Seleção dos dentes e preparo dos espécimes

Foram utilizados dentes de humanos, extraídos por razões alheias a esta pesquisa. Após radiografias realizadas no sentido próximo-proximal, foram selecionados dentes com canal único e reto, comprimentos aproximados de 22 mm, sem presença de trincas e calcificações. Os dentes foram limpos e mantidos em solução de timol 0,1%, até o momento do experimento.

As coroas de 30 dentes foram removidas 1 mm aquém da junção cimento-esmalte usando disco diamantado (Brasseler Dental Products, Savannah, Ga, EUA), sob refrigeração. As raízes foram fixadas com godiva de baixa fusão (DFL) a uma placa metálica e seccionadas na máquina ISOMET (South Bay Technology, San Clement, CA, EUA) com o auxílio de um disco diamantado dupla face (Buehler, Lake Forest, IL, EUA), a uma velocidade de 250 rpm e sob constante refrigeração. Foram selecionados 90 cortes (1 mm de espessura) que tiveram o espaço relativo ao canal ampliado no sentido cérico-apical com broca de preparo para pinos calibre 2 (DT Light Post, Bisco, EUA).

Após o preparo, as fatias foram imersas em 2 mL de EDTA 17% (Precisão-laboratório de manipulação, Curitiba, Brasil), por 2 min e, na

sequência, em hipoclorito de sódio 1% (Precisão-laboratório de manipulação, Curitiba, Brasil), por 2 min. Secas, as fatias foram aleatoriamente divididas em 6 grupos (n = 15), de acordo com o cimento utilizado (Tabela 1): Grupos controle, sem a adição de rodamina B: GC_{Fill} (MTA Fillapex) e GC_{AH} (AH Plus); Grupos com adição de rodamina B em grãos (0,001g/1g do cimento): G1_{Fill} (MTA Fillapex) e G1_{AH} (AH Plus); Grupos com adição de rodamina B diluída (0,001g/0,05 mL de água destilada e tamponada com solução fosfato de sódio 0,5%/1g do cimento): G2_{Fill} (MTA Fillapex) e G2_{AH} (AH Plus). A estrutura molecular da rodamina B (Batch 121K3688, RITC\Rhodamine B R6626 Sigma, St Louis, MO, EUA) pode ser vista na Figura 1.

Tabela 1 Descrição dos grupos formados de acordo com os cimentos utilizados no experimento (MTA Fillapex e AH Plus) e a adição de rodamina B.

Cimentos	Grupos*		
	GC	G1	G2
<i>MTA Fillapex</i>	GC _{Fill}	G1 _{Fill}	G2 _{Fill}
<i>AH Plus</i>	GC _{AH}	G1 _{AH}	G2 _{AH}

* Grupos: GC: Grupo controle, cimento manipulado sem adição de rodamina B; G1: Cimento adicionado de rodamina B em grãos (0,001g rodamina/1g do cimento); G2: Cimento adicionado de rodamina B diluída em 0,05 mL de água destilada e tamponada com solução de fosfato de sódio 0,5% (0,001g de rodamina/1 g cimento).

Push-out

Cada fatia foi posicionada sobre lâmina de vidro e o espaço relativo ao canal preenchido com o cimento de acordo com o grupo em questão. Após a remoção dos excessos de cimento, as amostras foram mantidas em 100% de umidade relativa, a 37°C, por 07 dias. Após a presa do material, as superfícies das fatias foram polidas com discos *soflex* (3M), em baixa rotação. As fatias foram acopladas a uma base metálica com orifício na região central, e fixadas na porção inferior da máquina Instron, Modelo 4444 (Instron, Canton, MA, USA).

O espaço relativo ao canal radicular de cada fatia foi posicionado na mesma direção do orifício da base metálica, com sua face cervical voltada para baixo. Uma haste metálica, com ponta ativa de 0,6 mm, fixada na porção superior da máquina Instron foi acionada com uma

velocidade de cruzeta de 0,5 mm/min, até o deslocamento do cimento. A carga foi aplicada no sentido ápico-cervical da amostra. A força necessária para o deslocamento do cimento foi aferida em quilonewton (kN), transformada em newtons (N) e convertida em megapascal (MPa) pela divisão com a área lateral da obturação (em mm²). A área lateral (SL) do espaço preenchido pelo material obturador foi calculada de acordo com a fórmula a seguir:

$$S_L = \pi(R + r) \sqrt{h^2 + (R - r)^2}$$

SL = área lateral do canal, R = medida do raio do canal em sua porção coronal, r = medida do raio do canal em sua porção apical, h = altura/espessura da secção transversal do canal.

Para a análise das falhas ocorridas após o teste de *push-out*, as fatias foram submetidas à análise por estereomicroscópio, sob ampliação (10x), para analisar a natureza da falha adesiva de acordo com os critérios previamente estabelecidos (Tedesco *et al.* 2014): falha adesiva (falha entre cimento e dentina, com a dentina ficando livre do cimento); falha coesiva do material (quando houve fratura apenas no cimento mas este continua aderido à dentina) e falha mista (quando o cimento permaneceu aderido em parte da dentina e parte ficou fraturado). Espécimes representativos das falhas foram montados em lâminas microscópicas e observados em Confocal, com aumentos entre 100 a 400 x.

Escoamento

O teste de escoamento foi realizado de acordo com a norma ANSI/ADA (2012). Os cimentos endodônticos MTA Fillapex e AH Plus foram manipulados seguindo as orientações dos fabricantes e de acordo com os grupos apresentados na Tabela 1.

Para a realização do teste, uma pequena quantidade do cimento (0,5g) foi colocada em uma placa de vidro (100 x 150 mm). Após 3 min, outra placa de vidro foi posicionada sobre o cimento manipulado, com um peso de 120 g colocado sobre a mesma. Dez minutos após, o peso foi removido e os diâmetros máximo e mínimo do cimento foram mensurados com paquímetro digital. Este teste foi realizado em triplicada e, como resultado, foi considerado a média dos dados obtidos em cada grupo.

Tempo de presa

Para o teste do tempo de presa, os cimentos MTA Fillapex e AH Plus foram manipulados de acordo com os grupos descritos anteriormente. O AH Plus foi inserido em anel metálico de 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura (ANSI/ADA 2012). Para o MTA Fillapex foram confeccionadas matrizes de gesso com cavidades em forma de disco, com diâmetro interno de 10 mm e altura de 1 mm (ANSI/ADA 2012, Bernardi *et al.* 2015). Após o armazenamento das matrizes a 37°C e umidade relativa de 100%, por 24 h, as cavidades foram preenchidas com os cimentos manipulados de acordo com o especificado para cada grupo (n=3). Na sequência, uma agulha tipo *Gillmore*, de $100 \pm 0,5$ g e ponta cilíndrica com $2,0 \pm 0,1$ mm de diâmetro incidiu verticalmente na superfície horizontal do cimento, marcando uma indentação. Essa manobra foi repetida algumas vezes, em intervalos alternados e em diferentes áreas, até que a marcação não foi mais visível. O tempo de presa do cimento foi considerado desde o início da mistura até o momento em que a marca da agulha não foi mais visível.

Solubilidade e desintegração

Para cada grupo (Tabela 1), seis anéis de Teflon padronizados em 1,5 mm de espessura e 7,75 mm de diâmetro foram utilizados, de acordo com metodologia descrita por Bernardi *et al.* (2015). Um orifício foi feito em cada anel para permitir a passagem de um fio de nylon, que mais tarde serviu como seu suporte. Após o preenchimento com cimento, os anéis permaneceram em estufa a 37 °C e umidade relativa de 95%, por tempo igual a três vezes o tempo de presa de cada cimento (visto anteriormente). Após, foi realizada a remoção dos resíduos com uma lixa d'água 600 (3M, Brasil) e os anéis foram pesados (PH0) em uma balança de precisão (A&D modelo GR-202, Tokyo Japão). Decorridas 24h em dessecador com sílica, cada anel foi submetido à nova pesagem (PD0). Em seguida, cada anel foi suspenso pelo fio de nylon e colocado no interior de recipientes plásticos individualizados, contendo 50 mL de água destilada e reconduzidos à estufa a 37 °C. Após os períodos de 07 e 30 dias, os anéis foram retirados dos recipientes plásticos e, depois da remoção do excesso de água, foram pesados (PH7d e PH30d). Depois, voltaram ao dessecador por 24 h e, após este tempo, foram novamente pesados (PD7d e PD30d).

A solubilidade dos cimentos correspondeu à perda de peso de cada da amostra, expressa como percentual do peso perdido em comparação ao peso original. Para o cálculo da solubilidade foi utilizada a equação abaixo (Vitti *et al.* 2014).

$$\text{Solubilidade} = \frac{\text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

Análise do potencial Hidrogeniônico (pH)

O pH da água na qual os espécimes ficaram imersos no teste de solubilidade foi medido nos períodos de 24 h e 30 dias. As medições foram realizadas por meio de um pHmetro (Instrutherm, PH-1700, São Paulo, Brasil) calibrado de acordo com soluções tampão (pH 7,0 e 9,0) e temperatura de 25 ± 2 °C, mantida constante por ar condicionado. O pH da água destilada utilizada foi determinado previamente à imersão dos espécimes.

Análise Estatística

Os dados resultantes de cada teste foram submetidos aos testes de normalidade por Kolmogorov Smirnov e Shapiro Wilk e teste de homogeneidade das variâncias por Levene. As análises dos dados paramétricos foram feitas utilizando-se testes ANOVA e *post hoc* Tukey. Dados não paramétricos ou cuja normalidade não foi constatada foram submetidos aos testes de Kruskal Wallis e Mann Whitney (dados não pareados); e Wilcoxon e Friedman (dados pareados). O nível de significância considerado para todos os testes foi de 5%.

Resultados

Push-out

Os resultados da análise da RU dos cimentos à dentina radicular, dos grupos controle e adicionados de rodamina B, estão expostos na Tabela 2. A análise não paramétrica por Kruskal Wallis e Mann Whitney mostrou diferenças estatisticamente significantes entre MTA Fillapex e AH Plus ($p < 0,05$). As médias da RU do cimento AH Plus foram significativamente superiores às médias obtidas pelo cimento MTA Fillapex.

A análise dos grupos (GC_{AH} , $G1_{AH}$ e $G2_{AH}$) do cimento AH Plus mostrou diferenças estatisticamente significantes ($p = 0,000$). Observou-se que no grupo $G1_{AH}$ (acrescido de rodamina diluída em pó) houve redução significativa da RU do cimento à dentina ($p = 0,037$), quando comparado ao grupo controle GC_{AH} . A adição da rodamina B em pó ($G1_{Fill}$) ou diluída em água ($G2_{Fill}$) não influenciou a RU à dentina do cimento MTA Fillapex ($p > 0,05$).

Os resultados da análise das falhas ocorridas após teste de *push-out* estão expostos nas Figuras 2 e 3. Houve predominância de falha coesiva do cimento nas amostras do cimento MTA Fillapex nos grupos: GC_{Fill} (93,33%), $G1_{Fill}$ (73,3%) e $G2_{Fill}$ (60%); e AH Plus nos grupos: GC_{AH} (86,34%), $G1_{AH}$ (85,71%) e $G2_{AH}$ (100%). Falhas adesivas foram observadas nas amostras do cimento MTA Fillapex nos grupos $G1_{Fill}$ (27%) e $G2_{Fill}$ (40%) e, em menor percentual, nas amostras do cimento AH Plus nos grupos controle GC_{AH} (13,33%) e $G1_{AH}$ (14,29%).

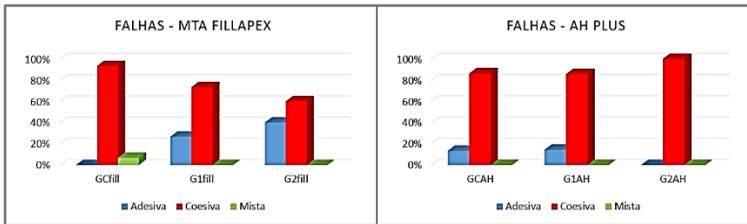


Figura 2 Modos de falhas observados após teste *push-out*. GC: Grupo controle, sem adição de rodamina B; G1: adição de rodamina B em grãos; G2: adição de rodamina B diluída.

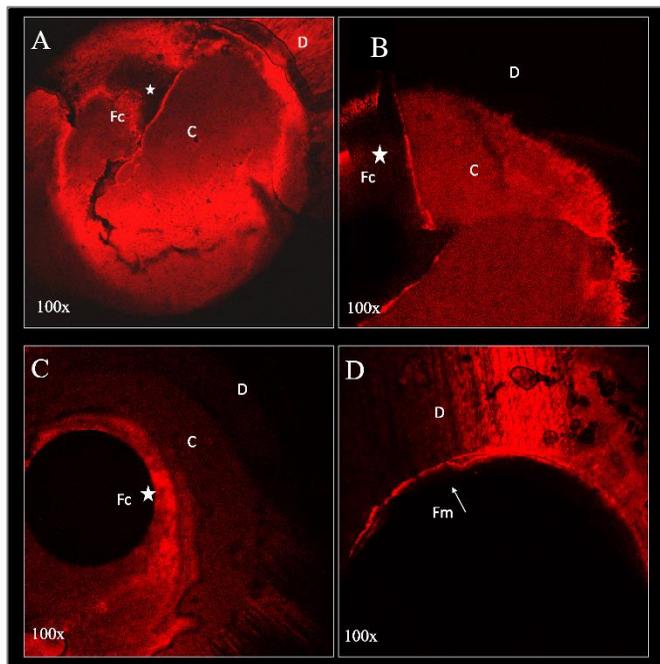


Figura 3 Imagens obtidas com microscópio CSLM representativas dos modos de falhas observados após teste de *push-out* (100×). (A) Amostra do cimento AH Plus do grupo G2_{AH} (acrescido de rodamina B diluída) mostrando falha coesiva (estrela), com fratura visível do material (B). Amostra do cimento AH Plus do grupo G1_{AH} (acrescido de rodamina B em pó). Observa-se falha coesiva com perda de material (estrela). (C) Amostra do cimento MTA Fillapex G2_{Fill} (adicionado de rodamina B diluída) mostrando falha coesiva (Fc), com parte do cimento ainda aderido à dentina (seta). (D) Amostra do cimento MTA Fillapex G1_{Fill} (adicionado de rodamina B em pó) onde observa-se falha. (D) Dentina. (C) Cimento. (Fc) Falha coesiva. (Fm) Falha mista.

Tabela 2 - Médias e desvio padrão da RU (em MPa) à dentina das amostras dos cimentos MTA Fillapex e AH Plus com ou sem a adição de rodamina B.

Cimentos	Grupos	Resistência de união
		\bar{X} SD
MTA Fillapex	GC_{Fill}	0,344±(0,169) ^A
	$G1_{Fill}$	0,275±(0,187) ^A
	$G2_{Fill}$	0,281±(0,145) ^A
AH Plus	GC_{AH}	4,341±(1,785) ^A
	$G1_{AH}$	2,991±(2,270) ^B
	$G2_{AH}$	5,071±(2,393) ^A

*Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre os grupos apenas para cada cimento (Teste de Kruskal Wallis e Man Whitney $\alpha = 0,05$). GC: Grupo controle, sem adição de rodamina B; G1: adição de rodamina B em grãos; G2: adição de rodamina B diluída.

Escoamento e tempo de presa

Os resultados do teste de escoamento e tempo de presa estão expostos na Tabela 3. A análise dos dados do teste de escoamento (ANOVA e *post hoc* Tukey) revelou diferenças estatisticamente significantes ($p = 0,003$) entre o grupo controle (GC_{Fill}) do MTA Fillapex e o adicionado de rodamina B em pó ($G1_{Fill}$) do mesmo cimento. O grupo adicionado de rodamina diluída ($G2_{Fill}$) teve escoamento similar ao controle ($p = 0,933$) e diferente do $G1_{Fill}$ ($p = 0,0001$). As amostras do AH Plus tiveram escoamentos estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$).

No teste de tempo de presa, observou-se que a presa do cimento MTA Fillapex nos grupos GC_{Fill} e $G1_{Fill}$ ocorreu 03 dias após sua manipulação (72 h), com consistência borrachóide que permaneceu inalterada mesmo após período de observação adicional de 18 dias (total 21 dias). No grupo acrescido de rodamina diluída ($G2_{Fill}$) a presa foi

significativamente mais rápida ($p < 0,05$). Quanto ao cimento AH Plus, o grupo controle teve resultados similares aos do grupo adicionado de rodamina B diluída ($G2_{AH}$), e ambos foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) do grupo adicionado de rodamina em grãos ($G1_{AH}$).

Tabela 3 Médias e desvio padrão das amostras dos grupos do MTA Fillapex (GC_{Fill} , $G1_{Fill}$ e $G2_{Fill}$) e do AH Plus (GC_{AH} , $G1_{AH}$ e $G2_{AH}$) após os testes de escoamento e tempo de presa:

Grupos	Escoamento (mm)	Tempo de Presa (h)
GC_{Fill}	$30,18 \pm (4,32)^A$	$72,00 \pm (0,00)^A$
$G1_{Fill}$	$50,05 \pm (11,43)^B$	$72,00 \pm (0,00)^A$
$G2_{Fill}$	$27,70 \pm (1,42)^A$	$08,00 \pm (0,75)^B$
GC_{AH}	$27,18 \pm (5,19)^A$	$24,00 \pm (0,00)^A$
$G1_{AH}$	$26,80 \pm (2,41)^A$	$46,67 \pm (2,31)^B$
$G2_{AH}$	$30,90 \pm (0,96)^A$	$21,90 \pm (1,73)^A$

Letras sobrescritas diferentes indicam diferença significativa entre os grupos dentro de cada cimento (coluna). Teste de ANOVA e *post hoc* Tukey; $\alpha = 0,05$. GC: Grupo controle, sem adição de rodamina B; G1: adição de rodamina B em grãos; G2: adição de rodamina B diluída.

Teste de Solubilidade e desintegração

As médias e desvio-padrão das amostras pesadas hidratadas e desidratadas (diferença do peso inicial em %) estão expostos na Tabela 4 (análise dos dados por Kruskal Wallis e Mann Whitney entre os grupos e Wilcoxon entre períodos). De modo geral, as amostras do cimento MTA Fillapex apresentaram maior solubilidade do que as amostras do AH Plus, com diferença significativa para as amostras quando desidratadas (Tabela 4, $p < 0,001$).

A análise da solubilidade das amostras hidratadas do cimento MTA Fillapex (Tabela 4) revelou que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os grupos (GC_{Fill} , $G1_{Fill}$ e $G2_{Fill}$) em ambos os períodos analisados (07 e 30 dias). Para as amostras hidratadas do AH Plus foi

observado que o grupo controle (GC_{AH}), quando hidratado, apresentou maior peso em relação aos demais grupos acrescidos de rodamina B após 07 dias de imersão em água, e foi significativamente diferente ($p = 0,031$) do grupo adicionado de rodamina B diluída ($G2_{AH}$). Após o período de imersão por 30 dias foi observado que as amostras dos grupos adicionados de rodamina tiveram solubilidade semelhante a do grupo controle e diferentes entre si ($p = 0,023$). Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os dois períodos (07 e 30 dias) para cada cimento.

A análise da solubilidade das amostras desidratadas (Tabela 4) não mostrou diferenças significativas entre os grupos, ou entre os períodos de 07 e 30 dias, independentemente do cimento avaliado (MTA Fillapex ou AH Plus).

Tabela 4 Médias e desvio padrão resultantes do teste de solubilidade (%) dos cimentos endodônticos dos grupos controle e acrescidos de rodamina B em cada período hidratado e desidratado:

Grupos	Hidratado		Desidratado		
	07 dias	30 dias	07 dias	30 dias	
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	
<i>MTA Fillapex</i>	GC_{Fill}	$0,963 \pm (1,093)^{Aa}$	$-1,259 \pm (4,254)^{Aa}$	$-3,829 \pm (2,749)^{Aa}$	$-6,043 \pm (2,959)^{Aa}$
	$G1_{Fill}$	$-2,355 \pm (3,550)^{Aa}$	$1,011 \pm (1,845)^{Aa}$	$-3,414 \pm (0,728)^{Aa}$	$-5,635 \pm (2,705)^{Aa}$
	$G2_{Fill}$	$-0,505 \pm (0,352)^{Aa}$	$-2,627 \pm (4,048)^{Aa}$	$-3,033 \pm (0,417)^{Aa}$	$-5,451 \pm (3,903)^{Aa}$
<i>AH Plus</i>	GC_{AH}	$0,062 \pm (0,080)^{Aa}$	$0,062 \pm (0,142)^{Aa}$	$0,062 \pm (0,218)^{Aa}$	$-0,082 \pm (0,179)^{Aa}$
	$G1_{AH}$	$-0,019 \pm (0,759)^{ABa}$	$-0,116 \pm (0,248)^{Aa}$	$0,020 \pm (0,040)^{Aa}$	$-0,163 \pm (0,275)^{Aa}$
	$G2_{AH}$	$-0,221 \pm (0,135)^{Ba}$	$-0,180 \pm (0,075)^{Ba}$	$-0,080 \pm (0,652)^{Aa}$	$-0,181 \pm (0,039)^{Aa}$

Valores negativos indicam perda de peso. Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (colunas) para cada cimento. Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença estatística entre os períodos de 07 dias e 30 dias (linhas), quando hidratados ou desidratados. Dados submetidos aos testes de Kruskal Wallis e Mann Whitney (comparações entre grupos) e Willcoxon (comparações entre períodos) $\alpha = 0,05$. GC: Grupo controle, sem adição de rodamina B; G1: adição de rodamina B em grãos; G2: adição de rodamina B diluída.

Teste de pH

As médias e desvio padrão do pH observado em cada amostra estão expostos na Tabela 5 (análise dos dados por Anova de 2 vias e *post hoc* Tukey entre os grupos, e Friedman entre períodos dentro de cada cimento). De modo geral observou-se a diminuição dos valores de pH com o passar do tempo, independente do cimento utilizado, embora o pH das amostras do MTA Fillapex tenha sido superior ao das amostras do AH Plus, em todos os períodos ($p > 0,05$).

Na análise do MTA Fillapex, as mensurações de pH das amostras dos grupos GC_{Fill} , $G1_{Fill}$ e $G2_{Fill}$ após 30 dias, revelaram diferenças significativas ($p = 0,012$) em comparação aos períodos de 24 h e 07 dias, que foram semelhantes entre si. Houve diferença significativa entre o grupo controle e adicionados de rodamina B apenas no período de 30 dias.

No cimento AH Plus houve diferença significativa ($p < 0,05$) do pH das amostras do grupo da rodamina B diluída ($G2_{AH}$) com relação às do grupo controle (GC_{AH}), em todos os períodos avaliados (24 h, 7 dias e 30 dias), embora os valores de pH deste grupo tenham sido semelhantes entre esses períodos. Após 30 dias, o grupo adicionado de rodamina B em grãos ($G1_{AH}$) também teve resultados estatisticamente diferentes do grupo controle ($p < 0,001$).

Tabela 5 Médias e desvio padrão resultantes da mensuração do pH da água dos grupos que permaneceram imersos em cada um dos períodos (24 h, 07 dias e 30 dias):

	Grupos	24h	07 dias	30 dias
		\bar{X} e DP	\bar{X} e DP	\bar{X} e DP
MTA Fillapex	GC_{Fill}	9,600 ± (0,499) ^{Aa}	8,795 ± (0,142) ^{Aa}	8,292 ± (0,029) ^{Ab}
	$G1_{Fill}$	10,190 ± (0,242) ^{Aa}	9,155 ± (0,492) ^{Aa}	8,217 ± (0,018) ^{Bb}
	$G2_{Fill}$	10,260 ± (0,484) ^{Aa}	9,275 ± (0,651) ^{Aa}	8,167 ± (0,060) ^{Bb}
AH Plus	GC_{AH}	7,487 ± (0,434) ^{Aa}	8,127 ± (0,360) ^{Ab}	7,570 ± (0,277) ^{Aa}
	$G1_{AH}$	7,512 ± (0,217) ^{Aa}	7,272 ± (0,182) ^{Ba}	6,590 ± (0,028) ^{Bb}
	$G2_{AH}$	6,800 ± (0,141) ^{Ba}	6,580 ± (0,040) ^{Ca}	6,670 ± (0,241) ^{Ba}

Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença estatística entre os grupos (colunas) para cada cimento. Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença estatística entre os períodos de 24h, 07 dias e 30 dias (linhas). Dados submetidos aos testes de Anova 2

vias e *post hoc* Tukey (comparações entre grupos) e Friedman (comparações entre períodos); $\alpha = 0,05$. GC: Grupo controle, sem adição de rodamina B; G1: adição de rodamina B em grãos; G2: adição de rodamina B diluída.

Discussão

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos que a adição da rodamina B promove sobre os cimentos MTA Fillapex e AH Plus. Com base nos resultados obtidos a hipótese nula deve ser parcialmente rejeitada. A adição da rodamina B aos cimentos promoveu alterações em algumas das propriedades avaliadas.

Os resultados do teste de resistência de união dos materiais à dentina radicular mostraram diferenças significativas no cimento AH Plus quando adicionado da rodamina B em pó. Tal redução na resistência de união pode ser explicada pela presença de moléculas livres de rodamina B movimentando-se e interferindo na conversão dos monômeros em polímeros prejudicando a cura química do material (D'Alpino *et al.* 2006, Araújo *et al.* 2013).

A rodamina B é um corante da classe dos xantenos, apresenta fotoestabilidade, é estável sob diferentes condições de pH, e é altamente solúvel em água (Pioch *et al.* 1997; Madge *et al.* 1999; Beija *et al.* 2009). Este marcador foi selecionado por ser muito utilizado em estudos com agentes adesivos, cimentos resinosos e endodônticos (Diaspro *et al.* 2001, D'Alpino *et al.* 2006). A rodamina B tem a finalidade de permitir a visualização em microscopia e não deveria ocasionar mudanças físicas ou químicas nos materiais ao qual é adicionada. Portanto, é desejável que não ocorram ligações covalentes entre as moléculas do corante e os compostos presentes nos materiais (D'Alpino *et al.* 2006). No entanto, a adição de uma amina terciária pode catalisar com o grupo epóxi do cimento durante a polimerização, diminuindo os valores de energia de ativação (Rozenberg *et al.* 1985, Fernández *et al.* 2009). O cimento AH Plus apresenta base em resina epóxica e quando ocorre o contato de aminas (da rodamina) com o bisfenol A e F inicia-se a conversão de monômeros em polímeros, ocasionando a presa do material (Fernández *et al.* 2009).

Foram observadas alterações no tempo de presa do cimento AH Plus associado à rodamina B diluída e rodamina em pó. A adição da

rodamina B diluída acelerou o tempo de presa e a adição da rodamina B em pó retardou este tempo (significativamente). Alterações na polimerização e outras propriedades da resina epóxica foram relatadas em estudos físicos-químicos prévios (Fernández *et al.* 2009). Fernández *et al.* 2009 realizaram um estudo cinético da polimerização da resina epóxica com o objetivo de desenvolver um novo pré-polímero. A resina epóxica diglicidil éter bisfenol A (DGEBA) foi adicionada de rodamina B e m-xililenodiamino (MXDA), utilizado como catalizador com o propósito de obter ligações poliméricas cruzadas. Foram realizados teste de escaneamento diferencial de calorimetria (DSC) e espectroscopia infravermelho com transformação de Fourier (FTIR). Com base nas análises realizadas, os autores observaram influência catalítica do grupo hidroxil formado pela resina epóxica adicionada de amina (oriunda da rodamina B) na reação de polimerização. No estudo, os valores de energia de ativação da reação obtidos foram menores em relação aos descritos por outros estudos semelhantes, o que pode explicar, parcialmente, as alterações ocorridas no tempo de presa dos cimentos analisados. No caso da rodamina em grãos, é possível que o acréscimo da rodamina tenha também absorvido umidade do cimento e retardado a reação de presa do material. Quando a rodamina foi adicionada diluída em água, as partículas de amina podem ter se distribuído mais rapidamente no cimento e acelerado a presa do material.

O cimento MTA Fillapex do grupo controle e do grupo adicionado de rodamina em pó apresentou presa inicial após 40 minutos da manipulação e presa final após 72 h. Porém, mesmo após este período, o material apresentava consistência borrachóide, o que ainda foi observado após período de observação adicional de 18 dias a 37°C a 100% de umidade. O fabricante informa em seu site (<http://angelus.ind.br/MTA-Fillapex-11.html>) que a presa final do cimento ocorre após 2 horas. Contudo, os resultados do presente estudo, mesmo tendo seguido as novas normas estabelecidas pela ADA e ISO (2012) para cimentos que endurecem com umidade, contradizem essa informação, e também discordam dos achados de Amoroso *et al.*, 2009 e Vitti *et al.*, 2013. O grupo adicionado de rodamina diluída em água teve diminuição do tempo de presa. Provavelmente, a água adicional pode ter contribuído para a hidratação do cimento e acelerado o tempo de presa, o que pode ser explicado pela característica hidrofílica que o MTA Fillapex possui (Angelus soluções Odontológicas) de iniciar a reação de presa quando em contato com a água. Nas recomendações e instruções do fabricante para o uso do MTA Fillapex está especificado a necessidade da

presença de umidade no interior do canal radicular para que o material realize a cura.

As médias de escoamento do cimento AH Plus ficaram dentro das medidas determinadas pela ADA nº 57, independentemente da adição da rodamina B em grãos ou diluída. No entanto, no cimento MTA Fillapex houve um aumento de escoamento nas amostras adicionadas de rodamina em pó. Pode-se supor que como a presa do material depende da presença de umidade, a adição do pó da rodamina pode ter absorvido parte da água disponível no cimento, e assim ter retardado a presa inicial e aumentado o escoamento.

Quanto ao teste de solubilidade dos materiais, o uso de anéis de teflon de 12 mm de diâmetro e 4 mm de altura tornaram estável a retenção dos cimentos ao molde (Bozeman *et al.* 2006; Bortoluzzi *et al.* 2009, Bernardi *et al.* 2015). A pesagem das amostras foi realizada quando hidratadas e desidratadas. Este modo de pesagem permite que a avaliação seja feita com maior acurácia e avalie a propriedade dos materiais de captação de umidade antes mesmo da imersão em água (Bortoluzzi *et al.* 2009). No presente estudo foi proposto a mensuração da perda de peso em dois momentos, 07 dias e 30 dias (Zhou *et al.* 2013) para permitir comparações posteriores.

Nossos resultados para o teste de solubilidade do MTA Fillapex corroboram com os de outros estudos (Borges *et al.* 2012; Faria-Júnior *et al.* 2013; Zhou *et al.* 2013; Borges *et al.* 2014). Houve perda de peso do cimento MTA Fillapex acrescido ou não de rodamina B nos períodos de 7 e 30 dias, principalmente quando pesados desidratados. Por outro lado, as amostras do AH Plus apresentaram baixa solubilidade no grupo controle nos períodos hidratado e desidratado, e após 7 dias ou 30 dias. O AH Plus apresenta sua base resinosa (polimérica) que promove a absorção da solução de imersão e apresenta nenhuma ou baixa solubilidade (Anusavice *et al.* 2013; Viapiana *et al.* 2014; Arrais-Moliz *et al.* 2015; Sonntag *et al.* 2015). Houve maior solubilidade nos grupos do cimento AH Plus acrescidos de rodamina B. No entanto, não foi observada visualmente a desintegração das partículas do cimento AH Plus no fundo do recipiente.

As mensurações de pH foram realizadas após 24 h, 07 e 30 dias com o objetivo de avaliar as oscilações nas amostras controle e nas amostras adicionadas de rodamina B. O cimento MTA Fillapex, independente do grupo avaliado (com ou sem rodamina) apresentou pH elevado em todos os períodos avaliados, atingindo maiores valores nas primeiras 24 h, e diminuindo nos períodos subsequentes, como também observado por Silva *et al.* (2013). O pH do cimento AH Plus controle teve

um aumento significativo após 07 dias e queda após 30 dias. De maneira geral os valores de pH do AH Plus foram significativamente menores que os do MTA Fillapex em cada período avaliado, principalmente quando o cimento foi adicionado de rodamina diluída.

A discussão dos resultados alcançados ficou limitada devido à existência de poucos estudos similares publicados previamente. Novos estudos comparando diferentes concentrações e novas formas de adição do corante ao material a ser estudado por Confocal, são necessários para buscar alternativas de uso da rodamina B, de modo a evitar interferências nas propriedades físico-químicas dos materiais.

Conclusão

Com base nos resultados apresentados no presente estudo pode-se concluir que a incorporação de rodamina B ao cimento MTA Fillapex e AH Plus afetou as propriedades físico-químicas dos cimentos. A rodamina B em pó adicionada ao AH Plus diminuiu a resistência de união à dentina (RU), aumentou o tempo de presa do cimento e reduziu o pH após 07 dias e 30 dias. No cimento MTA Fillapex, o acréscimo da rodamina em pó promoveu aumento do escoamento e redução do pH após 30 dias. A adição da rodamina diluída ao cimento AH Plus resultou em maior solubilidade após 07 dias e reduziu o pH em todos os períodos analisados; no cimento MTA Fillapex houve a redução no tempo de presa e redução de pH após 30 dias.

Referências

American National Standards Institute /American Dental Association (ANSI/ADA). Specification n° 57 – 2000: Endodontic Sealing Materials. Reaffirmed by ANSI; 2012.

Amoroso-Silva PA, Guimarães BM, Marciano MA, Duarte MA, Cavenago BC, Ordinola-Zapata R, De Almeida MM, De Moraes IG (2014). Microscopic analysis of the quality of obturation and physical properties of MTA Fillapex. *Microscopy Research Technique* **77**, 1031-6.

Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR (2013): Polímeros Dentários In:Phillips Materiais Dentários, ed 12, pp 92. Brasil, Rio de Janeiro, RJ.

- Arrais-Moliz MT, Ruiz-Linares M, Cassar G, Ferrer-Luque CM, Baca P, Ordinola-Zapata R, Camilleri J (2015). The effect of benzalkonium chloride additions to AH PI sealer. Antimicrobial, physical and chemical properties. *Journal of Dentistry* **43**, 846-54.
- Araújo. C.T.P, Pietro. L.T, Oliveira, D.C.R.S, Coppini E.K, Lima, A.F, Silva, W.J, Paulillo L.A.M.S (2013). Influence of fluorescent dye on mechanical properties of adhesive systems. *International Journal of Adhesive and Adhesion* **47**, 129-133.
- Beija, M., Carlos A. M. Afonso; Martinho, J. M. G. Martinho. Synthesis and applications of Rhodamine derivatives as fluorescent probes (2009). *The Royal Journal of Chemistry* **38**, 2410–2433.
- Bernardi A, Bortoluzzi EA, Felipe WT, Felipe MC, Wan WS, Teixeira CS (2015). Effects of the addition of nanoparticulate calcium carbonate on setting time, dimensional change, compressive strength, solubility and pH of MTA. *International Endodontic Journal* Epub ahead of Print.
- Bim, O. **Estratégias para adição de rodamina B em sistemas adesivos**.2013. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora) Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- Bitter K, Paris S, Martus P, Schartner R, Kielbassa AM (2004). A Confocal Laser Scanning Microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. *International Endodontic Journal* **37**, 840-8.
- Bitter K, Paris S, Pfuertner C, Neumann K, Kielbassa, AM (2009) Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. *European Journal of Oral Sciences* **117**, 326-33.
- Bitter K, Gläser C, Neumann K, Blunck U, Frankenberger R (2014). Analysis of resin-dentin interface morphology and bond strength evaluation of core materials for one stage post-endodontic restorations. *PLoS One* **10**, 86294.
- Borges AH, Dorileo, MCGO, Villa DR, Borba AM, Semenoff TADV, Guedes OA, Estrela.ARC, Bandeca MC (2014). Physicochemical

Properties and Surfaces Morphologies Evaluation of MTA FillApex and AH Plus. *The Scientific World Journal* **2014**,1-6.

- Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Júnior FA, De-Deus G, Miranda CE, Pécora JD (2012). Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *International Endodontic Journal* **45**,419-28.
- Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Felipe WT, Tanomaru Filho M, Esberard RM (2009). The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. *Journal of Endodontics* **35**, 550-4.
- Bozeman BT, Lemon RR, Eleazer PD. (2006). Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA. *Journal of Endodontics* **32**, 425–428.
- Chandra SS, Shankar P, Indira R (2012). Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Journal of Endodontics* **38**, 1412-6.
- D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH (2006). Use of fluorescent compounds in assessing bonded resin-based restorations: a literature review. *Journal of Dentistry* **34**, 623-34.
- Diaspro A, Robello M (2000). Two-photon excitation of fluorescence for three-dimensional optical imaging of biological structures. *Journal of Photochemical and Photobiology* **55**, 1-8. Review.
- Diaspro A, Chirico G, Federici F, Cannone F, Beretta S, Robello M (2001). Two-photon microscopy and spectroscopy based on a compact confocal scanning head. *Journal of Biomedical Optics* **6**, 300-10. Review.
- Faria-Júnior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FLCV, Guerreiro-Tanomaru JM (2013). Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *International Endodontic Journal* **46**, 755–762, 2013.

- Fernández R, Borja F.d'Arlas, Oyanguren, P.A, Mondragon, I (2009). Kinetic studies of the polymerization of an epoxy resin modified with rhodamine B. *Thermochimica Acta* **493**,6-13.
- Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG (2007). A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. *Journal of Endodontics* **33**, 957-61.
- International Organization for Standardization (2012). ISO 6876: Dentistry – Root sealing materials. Geneva, Switzerland: ISO; 2012.
- Madge D, Rojas G.E.Seybold, P.G. Seybold (1999). Solvent Dependence of the Fluorescence Lifetimes of Xanthene Dyes. *Photochemistry and Photobiology* **70**, 737-744.
- Patel D.V, Sherriff, M, Ford, T.R, Watson, T.F, Mannocci, C. (2007) The penetration of Real Seal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopy. *International Endodontic Journal* **40** 67-71.
- Pioch.T, Stotz S, Staehle HJ, Duschner H (1997) Applications of confocal laser scanning microscopy to dental bonding. *Advances in Dental Research* **11**, 453–61.
- Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S. (2012) Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *European Journal of Oral Sciences* **120**, 353-62.
- Profeta AC, Mannocci F, Foxton R, Watson TF, Feitosa VP, De Carlo B, Mongiorgi R, Valdré G, Sauro S (2013). Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin-dentin interfaces. *Dental Materials* **29**,729-41.
- Rozenberg BA (1985). Identification of the epoxy curing mechanism under isothermal conditions by thermal analysis and infrared spectroscopy *Advanced Polymer Sciences* **75**, 113.

- Sauro S, Pashley DH, Mannocci F, Tay FR, Pilecki P, Sherriff M, Watson TF (2008). Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. *European Journal of Oral Sciences* **116**, 184-93.
- Santini A, Miletic V (2008). Comparison of the hybrid layer formed by Silorane adhesive, one-step self-etch and etch and rinse systems using confocal micro-Raman spectroscopy and SEM. *Journal of Dentistry* **36**, 683-91.
- Silva EJ, Rosa TP, Herrera DR, Jacinto RC, Gomes BP, Zaia AA (2013). Evaluation of cytotoxicity and physicochemical properties of calcium silicate-based endodontic sealer MTA Fillapex. *Journal of Endodontics* **39**, 274-7.
- Sonntag D, Ritter A, Burkhart A, Fischer J, Mondrzyk A, Ritter H (2015). Experimental amine-epoxide sealer: a physicochemical study in comparison with AH Plus and EasySeal. *International Endodontic Journal* **48**, 747-56.
- Tedesco M, Felipe MC, Felipe WT, Alves AM, Bortoluzzi EA, Teixeira CS (2014) Adhesive interface and bond strength of endodontic sealers to root canal dentine after immersion in phosphate-buffered saline. *Microscopy Research and Technique* **77**, 1015-22.
- Toledano M, Sauro S, Cabello I, Watson T, Osorio R (2013). A Zn-doped etch-and-rinse adhesive may improve the mechanical properties and the integrity at the bonded-dentin interface. *Dental Materials* **29**, 142-52.
- Watson TF (1997). Fact and artefact in confocal microscopy. *Advances Dental Research* **11**, 433-41.
- Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru J, Tanomaru-Filho M, Camilleri J (2014). Interface of dentine to root canal sealers. *Journal of Dentistry* **42**, 336-50.

- Vitti RP, Prati C, Sinhoreti MA, Zanchi CH, Souza E Silva MG, Ogliari FA, Piva. E, Gandolfi MG (2013). Chemical-physical properties of experimental root canal sealers based on butyl ethylene glycol disalicylate and MTA. *Dental Materials* **29**, 1287-94.
- Zapata RO, Bramante CM, Graeff M, Perochena ADC, Vivan RR, Camargo, EJ, Garcia, RB, Bernardine N, Gutmann JL, Moraes IG (2009). Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: A confocal scanning microscopy study. *Oral Surgery Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **108**, 450-57
- Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M (2013). Physical properties of 5 root canal sealers. *Journal of Endodontics* **39**, 1281-6.

REFERÊNCIAS

ANSI/ADA (American National Standards Institute /American Dental Association). **Specification n°57 – 2000: Endodontic Sealing Materials**. Reaffirmed by ANSI, 2012.

AMOROSO-SILVA, P.A.; GUIMARÃES, B.M.; MARCIANO, M.A.; DUARTE, M.A.; CAVENAGO, B.C.; ORDINOLA-ZAPATA, R.; DE ALMEIDA, M.M.; DE MORAES, I.G.; Microscopic analysis of the quality of obturation and physical properties of MTA Fillapex. **Microscopy Research and Technique**, v.77, n. 12, p.1031-6, 2014.

ANUSAVICE KJ, SHEN C, RAWLS HR (2013): Polímeros Dentários In:Phillips Materiais Dentários, ed 12, pp 92. Brasil, Rio de Janeiro, RJ

AKTENER, B.O.; CENGIZ, T.; PIŞKIN, B. The penetration of smear material into dentinal tubules during instrumentation with surface-active reagents: a scanning electron microscopic study. **Journal of Endodontics**, v. 15, n. 12, p. 588-90, Dec, 1989.

ARAÚJO, C.T.P.; PIETRO, L.T.; OLIVEIRA, D.C.R.S.; COPPINI, E.K.; LIMA, A.F.; SILVA, W.J.; PAULILLO L.A.M.S (2013). Influence of fluorescent dye on mechanical properties of adhesive systems. **International Journal of Adhesive and Adhesion**, v. 47, p. 129-133, August, 2013.

ARRAIS-MOLIZ, M.T.; RUIZ-LINARES, M.; CASSAR, G.; FERRER-LUQUE, C.M.; BACA, P.; ORDINOLA-ZAPATA, R.; CAMILLERI J. The effect of benzalkonium chloride additions to AH PLUS sealer: Antimicrobial, physical and chemical properties. **Journal of Dentistry**, v. 43, n. 7, p. 846-54, Jul 2015.

ASSMANN, E.; BÖTTCHER, D.E.; HOPPE, C.B.; GRECCA, F.S.; KOPPER, P.M.; Evaluation of bone tissue response to a sealer containing mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 1, p. 62-6, Jan, 2015.

ASSMANN, E.; SCARPARO, R.K.; BOTTCHER, D.E.; GRECCA, F.S. Dentin bond strength of two mineral trioxide aggregate based and one

epoxy resin based sealer. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 2, p. 219-21, Feb, 2011.

ATMEH, A.R; CHONG, E.Z; RICHARD, G; FESTY, F; WATSON, T.F. Dentin cement interfacial interaction: calcium silicates and polyalkenoates. **Journal of Dentistry Research**. v. 91, n. 5, p. 454-9, May, 2012.

BABB, B.R.; LOUSHINE, R.J.; BRYAN, T.E.; AMES, J.M.; CAUSEY, M.S; KIM, J.; KIM, Y.K.; WELLER, R.N.; PASHLEY, D.H.; TAY, F.R. Bonding of self-adhesive (self-etching) root canal sealers to radicular dentin. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 4, p. 578-82, Apr, 2009.

BAUMGARTNER G, ZEHNDER M, PAQUE´ F (2007). *Enterococcus faecalis* type strain leakage through root canals filled with Gutta-Percha/AH plus or Resilon/Epiphany. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 1, p.45–47, Jan, 2007.

BALGUERIE, E.; VAN DER SLUIS, L.; VALLAEYS, K.; GURGEL-GEORGELIN, M.; DIEMER, F. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. **Journal of Endodontics**, v.37, n.11, p.1576-9, Nov, 2011.

BERNARDI, A.; BORTOLUZZI, E.A.; FELIPPE, W.T.; FELIPPE, M.C.; WAN, W.S.; TEIXEIRA, C.S. Effects of the addition of nanoparticulate calcium carbonate on setting time, dimensional change, compressive strength, solubility and pH of MTA. **International Endodontic Journal**, Dec, 2015 Epub ahead of Print.

BIM, O. **Estratégias para adição de rodamina B em sistemas adesivos**.2013. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora)-Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

BIGGS, S.; KNOWLES, K.; IBARROLA, J.; PASHLEY, D.H. An in vitro assessment of the sealing ability of resilon/epiphany using fluid filtration. **Journal of Endodontics**, v.32, p.759–61, Aug, 2006.

BITTER, K.; PARIS, S.; MARTUS, P.; SCHATNER, R.; KIELBASSA, A.M.A. Confocal laser scanning microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. **International Endodontic Journal**, v. 37, n. 12, p. 840-48, Dec, 2004.

BITTER, K.; PARIS, S.; PFUERTNER, C.; NEUMANN, K.; KIELBASSA, A.M.; Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. **European Journal of Oral Sciences**, v. 117, n. 3, p. 326-33, Dec, 2009.

BITTER, K.; GLÄSER, C.; NEUMANN, K.; BLUNCK, U.; FRANKENBERGER, R. Analysis of resin-dentin interface morphology and bond strength evaluation of core materials for one stage post-endodontic restorations. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. 862-94, Feb, 2014.

BORTOLUZZI, E.A.; BROON, N.J.; BRAMANTE, C.M.; FELIPPE, W.T.; TANOMARU FILHO, M.; ESBERARD, R.M.; The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 4, p. 550-4, Apr, 2009.

BORGES. R.P.; SOUSA-NETO, M.; VERSIANI, M.A.; RACHED-JÚNIOR, F.A.; DE-DEUS, G.; MIRANDA, C.E.; PÉCOR, J.D.; Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 5, p.419-28, May, 2012.

BORGES, Á.H.; ORÇATI-DORILEO, M.C.; DALLA VILLA, R.; BORBA, A.M.; SEMENOFF, T.A.; GUEDES, O.A.; ESTRELA, C.R.; BANDECA, M.C.; Physicochemical properties and surfaces morphologies evaluation of MTA Fillapex and AH plus. **The Scientific World Journal**, p. 589732, 2014.

BOZEMAN, B.T.; LEMON,R.R.; ELEAZER, P.D. Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA. **Journal of Endodontic**, v. 32, n.5, p. 425–428, May, 2006.

CAMILLERI J. Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 1, p. 72-8, Jan, 2015.

CAMILLERI, J.; SORRENTINO, F.; DAMIDOT, D. Characterization of un-hydrated and hydrated BioAggregate™ and MTA Angelus™. **Clinical Oral Investigation**, v.19, n. 3, p. 689-98, Apr, 2015.

CARVALHO, R.M; YOSHIYAMA, M; BREWER, P.D; PASHLEY, D.H. Dimensional changes of demineralized human dentine during preparation for scanning electron microscopy. **Archives of Oral Biology** v. 41,n. 4, p.379–86, Apr,1996.

CHANDRA, S.S.; SHANKAR, P.; INDIRA R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 10, p. 1412-6, Oct, 2012.

D'ALPINO, P.H.; PEREIRA, J.C.; SVEZERO, N.R.; RUEGGELER, F.A.; PASHELEY, D.H. Use of fluorescent compounds in accessing bonded resin based restoration: a literature review. **Journal of Dentistry**, v. 34, n. 8, p. 623-34, Jan, 2006.

DE-ALMEIDA, J.; FELIPPE, M.C.; BORTOLUZZI, E.A.; TEIXEIRA, C.S.; FELIPPE, W.T. Influence of the exposure of MTA with and without calcium chloride to phosphate-buffered saline on the push-out bond strength to dentine. **International Endodontic Journal**, v. 47, n. 5, p. 449-53, May, 2014.

DE DEUS, G.; GURGEL FILHO, E.D.; FERREIRA, C.M.; COUTINHO FILHO T. Intratubular penetration of root canal sealers. **Pesquisa Odontológica Brasileira**. 2002, v. 16, n. 4, p. 332-6, Oct-Dec, 2002.

DE DEUS, G.A.; GURGEL-FILHO, E.D.; MANIGLIA-FERREIRA, C.; COUTINHO-FILHO T. The influence of filling technique on depth of tubule penetration by root canal sealer: a study using light microscopy and digital image processing. **Australian Endodontic Journal**, v. 30, n. 1, p. 23-8, Apr, 2004.

DE-DEUS, G.; BRANDÃO, M.C.; LEAL, F.; REIS, C.; SOUZA, E.M.; LUNA, A.S.; PACIORNIK, S.; FIDEL, S. Lack of correlation between sealer penetration into dentinal tubules and sealability in nonbonded root fillings. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 7, p. 642-51, July, 2012.

DE MUNCK, J; VAN DEN STEEN, P.E, MINE, A; VAN LANDUYT K.L; POITEVIN, A; OPDENAKKER, G; VAN MEERBEEK B. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. **Journal of Dental Research**, v. 88, n.12, p.1101-6, Dec, 2009.

DIASPRO, A.; ROBELLO, M. Two-photon excitation of fluorescence for fluorescent three-dimensional optical imaging of biological structures. **Journal Photochemical Photobiology B**, v. 55, n. 1, p. 1-8, March, 2000.

DIASPRO, A.; CHIRICO, G.; FEDERICI, F.; CANNONE, F.; BERETTA, S.; ROBELLO, M. Two-photon microscopy and spectroscopy based on a compact confocal scanning head. **Journal of Biomedical Optics**, v. 6, n. 3, p.300-310, Jul, 2001.

DREGER, L.A.; FELIPPE, W.T.; REYES-CARMONA, J.F.; FELIPPE, G.S.; BORTOLUZZI, E.A.; FELIPPE, M.C. Mineral trioxide aggregate and Portland cement promote biomineralization in vivo. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 3, p. 324-9, Mar, 2012.

FANG, J.; MAI, S.; LING, J.; LIN, Z.; HUANG, X. In vitro evaluation of bond strength and sealing ability of a new low-shrinkage, methacrylate resin-based root canal sealer. **Journal Formosan Medical Association**, v.111, n.6, p.340-6, Jun, 2012.

FARIA-JÚNIOR, N.B.; TANOMARU-FILHO, M.; BERBERT, F.L.C.V.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. **International Endodontic Journal**, v. 46,n. 8,p. 755–762, Aug, 2013.

FERNÁNDEZ, R.; RESTREPO, J.S.; ARISTIZÁBAL, D.C.; ÁLVAREZ, L.G. Evaluation of the filling ability of artificial lateral canals using calcium silicate-based and epoxy resin-based endodontic sealers and two gutta-percha filling techniques. **International Endodontic Journal**, v. 31, n 1, p. 1-9, Mar, 2015.

FERNÁNDEZ, R.; BORJA, F.; D'ARLAS OYANGUREN, P.A.; MONDRAGON, I . Kinetic studies of the polymerization of an epoxy resin modified with rhodamine B. **Thermochemica Acta**, v. 493, p. 6-13, 2009.

FIELD, A. Correlações. Descobrimdo a Estatística Utilizando o Spss. 2ªed. Rio de Janeiro: Artmed, 2009. 688.

GANDOLFI, M.G.; PRATI, C. MTA and F-doped MTA cements used as sealers with warm gutta-percha Long-term study of sealing ability. **International Endodontic Journal**, v. 43, p. 889-901, Oct, 2010.

GHARIB, S.R.; TORDIK, P.A.; IMAMURA, G.M.; BAGINSKI, T.A.; GOODELL, G.G. A confocal laser scanning microscopy investigation of epiphany obturation system. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 8, p. 957-61, Aug, 2007.

GHODDUSI, J.; DIBAJI, F.; MARANDI, S. Correlation between sealer penetration and microleakage following the use of MTAD as a final irrigant. **Australian Endodontic Journal**, v. 36, n. 3, p. 109-13, Dec, 2010.

GILLEN, B.M.; LOONEY, S.W.; GU L.S.; LOUSHINE, B.A.; WELLER, R.N.; LOUSHINE, R.J.; PASHLEY, D.H.; TAY F.R. Impact of the quality of coronal restoration versus the quality of root canal fillings on success of root canal treatment: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 7, p.895–902, July, 2011.

GORACCI, C.; FABIANELLI, A.; FADEK, S.T.; PAPACCHINI, F.; TAY, F.R.; FERRARI, M. The Contribution of Friction to the Dislocation Resistance of Bonded Fiber Posts. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 8, p. 608-12, Aug, 2005.

HAMMAD, M.; QUALTROUGH, A., SILIKAS, N. Extended setting shrinkage behavior of endodontic sealers. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 1, p.90–3, Jan, 2008.

HARAGUSHIKU, G.A.; TEIXEIRA, C.S.; FURUSE, A.Y.; SOUSA, Y.T.; DE SOUSA NETO, M.D.; SILVA, R.G. Analysis of the interface and bond strength of resin-based endodontic cements to root dentin. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 5, p. 655-61, May, 2012.

HEINTZE S.D. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. **Dental Material**, v. 29, n. 1, p. 59-84, Jan, 2013.

HUFFMAN, B.D.; MAI S. PINNAL;WELLER, R.N.; PRIMUS, C.M.; GUTMANN, J.L.; PASHLEY, D.H.; TAY, F.R. Dislocation resistance of

Proroot Endo Sealer, from radicular dentine. **International Endodontic Journal**, v. 42, n. 1, p. 34-46, Jan, 2009.

ISO (International Organization for Standardization). **ISO 6876: Dentistry – Root sealing materials**. Geneva, Switzerland: ISO, 2012.

JAINAEN, A.; PALAMARA, J.E.; MESSER, H.H. Effect of dentinal tubules and resin-based endodontic sealers on fracture properties of root dentin. **Dental Materials**, v. 25, n.10, p.73-81, Oct, 2009.

KIM, Y.; GRANDINI, S.; AMES, J.M.; GU, L.S.; KIM, S.K.; PASHLEY, D.H.; GUTMANN, J.; TAY, F.; (2010). Critical review on methacrylate resin-based root canal sealers. **Journal of Endodontic**, v. 36, n. 3, p.383-99, March, 2010.

KIM, J.R.; NOSRAT, A.; FOUAD, A.F. Interfacial characteristics of Biodentine and MTA with dentine in simulated body fluid. **Journal of Dentistry**, v.43, n. 2, 241-7, Feb, 2015.

KING, K.T.; ANDERSON, R.W.; PASHLEY, D.H.; PANTERA, E.A JR. Longitudinal evaluation of the seal of endodontic retrofills. **Journal of Endodontics**, v. 16, n. 7, p. 307-10, Jul, 1990.

KOUVAS, V.; LIOLIOS, E.; VASSILIADIS, L.; PARISSIS-MESSIMERIS, S.; BOUTSIOUKIS A. Influence of smear layer on depth of penetration of three endodontic sealers: an SEM study. **Endodontic Dental Traumatology**, v. 14, n. 4, p. 191-5, Aug, 1998.

KOKKAS, A.B.; BOUTSIOUKIS, A.C.H.; VASSILIADIS, L.P.; STAVRIANOS, C.K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 2, p. 100-2, Feb, 2004.

KUGA, M.C.; DUARTE, M.A.; SANT'ANNA-JÚNIOR, A.; KEINE, K.C.; FARIA DANTAS, A.A.; GUIOTTI, F.A. Effects of calcium hydroxide addition on the physical and chemical properties of a calcium silicate-based sealer. **Journal of Applied Oral Sciences**, v, 22, n. 3, p.180-4, Jan, 2014.

LEE, K.W.; WILLIAMS, M.C.; CAMPS, J.J.; PASHLEY, D.H. Adhesion of Endodontic Sealers to Dentin and Gutta-Percha. **Journal of Endodontics**, v. 28, n. 10, p. 684-8, Oct, 2002.

MACHADO, R.; SILVA NETO, U.X.; CARNEIRO, E.; FARINIUK, L.F.; WESTPHALEN, V.P; CUNHA, R.S. 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. **Journal of Applied Oral Sciences**, v.22, n.1, p.22-8, Jan, 2014.

MADGE, D.; ROJAS, G.E.;SEYBOLD, P.G.; SEYBOLD. Solvent Dependence of the Fluorescence Lifetimes of Xanthene Dyes. **Photochemistry and Photobiology**, n. 70, p.737-744,1999.

MANICARDI, C.A.; VERSIANI, M.A.; SAGUY, P.C.; PECORA, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Influence of filling materials on bonding interface of thin walled root reinforced with resin and quartz-fiber posts. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 4, p. 531–37, Apr, 2011.

MAMOOTIL, K.; MESSER, H.H. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealers cement in extracted teeth and in vivo. **International Endodontic Journal**, v. 40, n. 11, p. 873-81, Nov, 2007.

MASTORAS, K.; VASILADIS, L.; KOULAOUZIDOU, E.; GOGOS, C. Evaluation of push-out bond strength of two endodontic post systems. **Journal of Endodontics** v. 38, n. 4, p. 510-4, Apr, 2012.

MESTIERI, L.B.; GOMES-CORNÉLIO, A.L.; RODRIGUES, E.M.; SALLES, L.P.; BOSSO-MARTELO, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; TANOMARU-FILHO, M. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based endodontic sealers in human dental pulp cells. **Journal of Applied Oral Sciences**, v. 23, n. 5, p.467-71, Oct, 2015.

MILETIC I, ANIĆ I, PEZELJ-RIBARIĆ S, JUKIĆ S. Leakage of five root canal sealers. **International Endodontic Journal**, v. 32, n. 5, p. 415-8, Sep, 1999.

MOINZADEH, A.T.; ZERBST, W.; BOUTSIOUKIS, C.; SHEMESH, H.; ZASLANSKY, P. Porosity distribution in root canals filled with gutta percha and calcium silicate cement. **Dental Materials**, v. 31, n. 9, 1100-8, Sep, 2015.

MONTEIRO, F.H.Z.; VILLALBA, H.; AGUIAR, F.H.B.; SOUZA, R.S.; ROMITI, C.G; TOLEDO, S. Evaluation of apical leakage of root canals obturated with tagger hybrid technique and lateral condensation techniques. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v. 3 n. 26, p. 334-9, 2008.

MONTOYA, C.; ARANGO-SANTANDER, S.; PELÁEZ-VARGAS, A.; AROLA, D.; OSSA, E.A. Effect of aging on the microstructure, hardness and chemical composition of dentin. **Archives of Oral Biology** v. 60, n.12, p. 1811-20, Dec, 2015.

MORADI, S.; GHODDUSI, J.; FORGHANI, M. Evaluation of dentinal tubule penetration after the use of dentin bonding agent as a root canal sealer. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 11, p. 1563-6, Nov, 2009.

MCKINLAY, K.J.; ALLISON, F.J.; SCOTCHFORD, C.A.; GRANT, D.M.; OLIVER, J.M.; KING, J.R.; WOOD, J.V.; BROWN, P.D. Comparison of environmental scanning electron microscopy with high vacuum scanning electron microscopy as applied to the assessment of cell morphology. **Journal of Biomedical Materials Research A**, v. 69, n. 2 p. 359-66, May, 2004.

NAGAS, E.; UYANIK, M.O.; EYMIRLI, A.; CEHRELI, Z.C.; VALLITTU, P.K.; LASSILA, L.V.; DURMAZ, V. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 2, p. 240-4, Feb, 2012.

NEELAKANTAN, P.; SUBBARAO, C.; SUBBARAO, C.V.; DE-DEUS, G.; ZEHNDER M. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. **International Endodontic Journal**, v. 44, n. 6, p. 491-8, Jun, 2011.

OKSAN, T.; AKTENER, B.O.; SEN, B.H.; TEZEL, H. The penetration of root canal sealers into dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. **International Endodontic Journal**, v. 26, n. 5, p. 301-5, Sep, 1993.

ØRSTAVIK, D.; ERIKSEN, H.M.; BEYER-OLSEN E.M. Adhesive properties and leakage of root canal sealers in vitro. **International Endodontic Journal**. v. 16, n. 2, p. 59-63, Apr,1983.

PATEL, D.V.; SHERRIFF M.; FORD, T.R.; WATSON, T.F.; MANNOCCI, F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. **International Endodontic Journal**, v.40, n.1, p.67-71, Jan, 2007.

PIOCHT, T.; STOTZ, S.; STAEHLE, H.J.; DUSCHNER, H. Applications of confocal laser scanning microscopy to dental bonding. **Advances in Dental Research**, v.11, n. 4, p.453–61, Nov, 1997.

PROFETA, A.C.; MANNOCCI, F.; FOXTON, R.M.; THOMPSON, I.; WATSON, T.F.; SAURO S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. **European Journal of Oral Sciences**, v. 120, n. 4, p. 353-62, Aug, 2012.

PROFETA, A.C.; MANNOCCI, F., FOXTON, R., WATSON, T.F.; FEITOSA, V.P.; DE CARLO, B.; MONGIORGI R.; VALDRÉ, G.; SAURO, S. Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin-dentin interfaces. **Dental Materials**, v. 29, n. 7, p. 729-41, Jul, 2013.

RACHED-JUNIOR, F.J.; SOUZA-GABRIEL, A.E.; ALFREDO, E.; MIRANDA, C.E.; SILVA-SOUSA, Y.T.; SOUSA-NETO, M.D. Bond strength of Epiphany sealer prepared with resinous solvent. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 2, p. 251-5, Feb, 2009.

REYES-CARMONA, J.E.; FELIPPE, M.; FELIPPE, W.T. The Biomineralization Ability of Mineral Trioxide Aggregate and Portland Cement on Dentin Enhances the Push-out Strength. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 2, p. 286-91, Feb, 2010.

ROZENBERG, B.A. Identification of the epoxy curing mechanism under isothermal conditions by thermal analysis and infrared spectroscopy **Advanced Polymer Sciences**, v.75,n. 01, p. 113, 1985.

SAGSEN, B.; USTUN, Y.; DEMIRBUGA, S.; PALA, K. Push-out bond strength sealers to root canal dentine. **International Endodontic Journal**, v. 44, n. 2, p.1088-1091, Dec, 2011.

SALEH, I.M, et al. Adhesive of Endodontic Sealers: Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive Spectroscopy. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 9, p. 595-601, Sep, 2003.

SANTINI, A.; MILETIC, V. Comparison of the hybrid layer formed by Silorane adhesive, one-step self-etch and etch and rinse systems using confocal micro-Raman spectroscopy and SEM. **Journal of Dentistry**, v. 36, n. 9, p. 683-91, Sep, 2008.

SANTOS, J.; CARRILHO, M.; TERVAHARTIALA, T.; SORSA, T.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; PASHLEY, D.; TAY, F.; FERRAZ, C.; TJÄDERHANE, L. Determination of matrix metalloproteinases in human radicular dentin. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 5 p. 686-9, May, 2015.

SAURO, S.; PASHLEY, D.H.; MANNOCCI, F.; TAY, F.R.; PILECKI, P.; SHERRIFF, M.; WATSON, T.F. Micropermeability of current self-etching and etch-and-rinse adhesives bonded to deep dentine: a comparison study using a double-staining/confocal microscopy technique. **European Journal of Oral Sciences**, v. 116, n. 2, p. 184-93, Apr, 2008.

SCHÄFER, E.; SCHRENKER, C.; ZUPANC, J.; BÜRKLEIN, S. Percentage of Gutta-percha Filled Areas in Canals Obturated with Cross-linked Gutta-percha Core-carrier Systems, Single-Cone and Lateral Compaction Technique. **Journal of Endodontics**, v. 1, n.1, p. 1-6, Jan, 2016.

SCHWARTZ, R.S. Adhesive Dentistry and Endodontics part 2: Bonding in the root canal system the promise problems A review, **Journal of Endodontics**, v.32, n.12, p.1125-35, Dez, 2006.

SEN, B.H.; PIŞKIN, B.; BARAN, N. The effect of tubular penetration of root canal sealers on dye microleakage. **International Endodontic Journal**, v. 29, n. 1, p. 23-8, Jan, 1996.

SEVIMAY, S.; DALAT, D. Evaluation of penetration and adaptation of three different sealer a SEM study. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 32, n. 9, p.101-15, Sep, 2005.

SIQUEIRA, J.F JR.; RÔÇAS, I.N.; LOPES, H.P.; DE UZEDA, M. Coronal leakage of two root canal sealers containing calcium hydroxide after exposure to human saliva. **Journal of Endodontics**, v. 25, n.1, p.14-6, Jan, 1999.

SILVA, E.M.; NORONHA-FILHO, J.D.; AMARAL, C.M.; POSKUS L.T.; GUIMARÃES JG. Long-term degradation of resin-based cements in substances present in the oral environment: influence of activation mode. **Journal of Applied Oral Sciences**, v. 21, n. 3, p. 271-7, May, 2013.

SHOKOUHINEJAD, N.; SABETI M.; GORJESTANI H.; SAGHIRI M.A; LOTFI M; HOSEINI A. ET AL. Penetration of Epiphany, Epiphany Self-Etch, and AH Plus into Dentinal Tubules: A Scanning Electron Microscopy Study. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 9, p.1316-19, Sep, 2011.

SLY, M.M.; MOORE, K.; PLATT, J.A.; BROWN, C.E. Push-out bond strength of a new endodontic obturation system (Resilon/Epiphany), **Journal of Endodontics**, v. 33, n.2 p.160–62, Feb, 2007.

SONNTAG, D.; RITTER, A.; BURKHART, A.; FISCHER, J.; MONDRZYK, A.; RITTER H. Experimental amine-epoxide sealer: a physicochemical study in comparison with AH Plus and EasySeal. **International Endodontic Journal**, v. 48 n. 8,p.747-56, Aug, 2015.

SOUSA-NETO, M.D.; RACHED-JUNIOR, F.A.; GARIBA-SILVA, R.; PECÓRA, J.D.; SILVA-SOUSA, Y.T. Avaliação da adesividade à dentina do cimento AH Plus e Epiphany associados aos cones de resilon e guta-percha. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 17, n. 43, p. 22-32, 2008.

TEIXEIRA, C.R.; ALFREDO, E.; THOMÉ, L.H.C.; GARIBA SILVA, R.; SILVA-SOUSA, Y.T.C.; SOUSA-NETO, M.D. Adhesion of endodontic sealer to dentin and gutta percha: shear and push-out Bond strenght measurements and SEM analysis. **Journal of Applied Oral Sciences**, v. 17, n. 2, p. 129-35, Marc/Apr, 2009.

TEIXEIRA, C.S.; SILVA-SOUSA, Y.C.; SOUSA-NETO M.D. Effects of light exposure time on composite resin hardness after root

reinforcement using translucent fibre post. **Journal of Dentistry**, v. 36, n. 7, p. 520-8, Jul, 2008.

TEDESCO, M.; FELIPPE, M.C.; FELIPPE, W.T.; ALVES, A.M.; BORTOLUZZI, E.A.; TEIXEIRA, C.S. Adhesive interface and bond strength of endodontic sealers to root canal dentine after immersion in phosphate-buffered saline. **Microscopy Research and Technique**, v. 77, n. 12, p. 1015-22, Sep, 2014

TOLEDANO, M.; SAURO, S.; CABELLO, I.; WATSON, T.; OSORIO, R. A Zn-doped etch-and-rinse adhesive may improve the mechanical properties and the integrity at the bonded-dentin interface. **Dental Materials**, v. 29, n. 8, p.142-52, Aug, 2013.

TOPÇUOĞLU, H.S.; TUNCAY, Ö.; DEMIRBUGA, S.; DINÇER, A.N.; ARSLAN, H. The effect of different final irrigant activation techniques on the bond strength of an epoxy resin-based endodontic sealer: a preliminary study. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 6, p. 862-6, Jun, 2014a.

TOPÇUOĞLU, H.S.; ARSLAN, H.; AKÇAY, M.; SAYGILI, G.; ÇAKICI, F.; TOPÇUOĞLU G. The effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate to root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 12, 2041-4, Dec, 2014b.

TUNCER, A.; TUNCER, S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 6, p. 860-3, Jun, 2012.

VAN MEERBEEK, B.; VARGAS, M.; INOUE, S.; YOSHIDA, Y.; PERDIGÃO, J.; LAMBRECHTS, P.; ET AL. Microscopy investigations, techniques, results, limitations. **American Journal of Dentistry**, v. 13, p. 3D–18D, Nov, 2000.

VAN MEERBEEK, B.; DHEM, A.; GORET-NICAISE, M.; BRAEM, M.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. **Journal of Dentistry Research**, v. 72, n. 2, p.495-501, Feb, 1993.

VAN STRIJP, A.J.; JANSEN, D.C.; DEGROOT, J; TEN CATE, J.M.; EVERTS V. Host derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. **Caries Research**, v.37, p. 58-65, Sep, 2003

VIAPIANA, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J.; TANOMARU-FILHO, M.; CAMILLERI, J. Interface of dentine to root canal sealers. **Journal of Dentistry**. v. 42, n.3, p.336-50, March, 2014.

VIEIRA, A.R.; SIQUEIRA, J.F JR.; RICUCCI, D.; LOPES, W.S. Dentinal tubule infection as the cause of recurrent disease and late endodontic treatment failure: a case report. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 2, p. 250-4, Feb, 2012.

VASSILIADIS, L.P.; SKLAVOUNOS, S.A.; STAVRIANOS C.K. Depth of penetration and appearance of Grossman sealer in the dentinal tubules: an in vivo study. **Journal of Endodontics**, v. 20, n. 8, p. 373-6, Aug, 1994.

VILANOVA, W.V.; CARVALHO-JUNIOR, J.R.; ALFREDO, E.; SOUSA-NETO, M.D.; SILVA-SOUSA, Y.T. Effect of intracanal irrigants on the bond strength of epoxy resin-based and methacrylate resin-based sealers to root canal walls. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 1, p. 42-8, Jan, 2012.

VITTI, R.P.; PRATI, C.; SILVA, E.J.; SINHORETI, M.A.; ZANCHI, C.H.; DE SOUZA E SILVA, M.G.; OGLIARI, F.A.; PIVA, E., GANDOLFI, M.G. Physical properties of MTA Fillapex sealer. **Journal of Endodontics**, v. 39, n.7, p. 915-8, Jul, 2013.

VITTI, R.P.; PRATI, C.; SINHORETI, M.A.; ZANCHI, C.H.; SOUZA E SILVA, M.G.; OGLIARI, F.A.; PIVA, E.; GANDOLFI, M.G.; Chemical-physical properties of experimental root canal sealers based on butyl ethylene glycol disalicylate and MTA. **Dental Materials**, v. 29, n. 12, p.1287-94, Dec, 2013.

WANG, Y.N.; WEI, J.; SHE, Q.; PACHECO, F.; TANG, C.Y. Microscopic characterization of FO/PRO membranes: a comparative study of CLSM, TEM and SEM. **Environmental Science Technology** v.18, n.46, p. 9995-10003, Dec, 2012.

WATSON, T.F. A Confocal Optical Microscope Study of the Morphology of the Tooth/Restoration Interface using Scotchbond 2 Dentin Adhesive, **Journal of Dentistry**, v. 68, n. 6, p. 1124-31, June, 1989.

WATSON, T.F. Fact and artefact in confocal microscopy. **Advances Dental Research**. v. 11, n. 4, p. 433-41, Nov, 1997.

WEIS, M.V.; PARASHOS, P.; MESSER, H.H. Effect of obturation technique on sealer cement thickness and dentinal tubule penetration. **International Endodontic Journal**, v. 37, n.10, p.653-63, Oct , 2004.

WHITE, J.G; AMOS, W.B; FORDHAM, M. An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. **Journal of Cell Biology** v. 105, n. 1, p. 41-8, Jul ,1987.

WONG, J.G.; CAPUTO, A.A.; LI P.; WHITE, S.N. Microleakage of adhesive resinous materials in root canals. **Journal of Conservative Dentistry**, v.16, n.3, p.213-8, May, 2013.

YOSHIYAMA, M.; CARVALHO, R.; SANO, H.; HORNER, J.; BREWER, P.D.; PASHLEY, D.H. Interfacial morphology and strength of bonds made to superficial versus deep dentin. **American Journal of Dentistry**, v. 8, n. 6, 297–302, Dec, 1995.

ZAPATA, R.O.; BRAMANTE, C.M.; GRAEFF, M.; PEROCHENA, A.D.C.; VIVAN, R.R.; CAMARGO, E.J.; GARCIA, R.B.; BERNARDINE, N.; GUTMANN, J.L.; MORAES, I.G. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compactation technique: A confocal scanning microscopy study. **Oral Surgery Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v.108, n. 3, p.450-57, Sep, 2009.

ZHOU, H.M.; SHEN, Y.; ZHENG, W.; LI, L.; ZHENG, Y.F.; HAAPASALO, M. Physical properties of 5 root canal sealers. **Journal of Endodontics**, v. 39, n.10, p.1281-6, Aug, 2013.



APÊNDICE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

INFORMAÇÃO

Meu nome é Maybell Tedesco e estou desenvolvendo uma pesquisa denominada: “**Análise da interface adesiva e resistência de união de materiais obturadores à dentina radicular: Um estudo cimentos endodônticos e métodos observacionais**”. Para a realização desta pesquisa utilizarei dentes naturais. No seu caso, o seu dente está sendo extraído por motivos de seu interesse, como para possibilitar a correção de dentes tortos pelo uso de aparelhos, ou por não existirem outras formas de tratamento para recuperá-los. Portanto, pedimos gentilmente que você faça a doação de seu dente e nos ajude a realizar esta importante pesquisa. Se você tiver alguma dúvida em relação a esta pesquisa ou não quiser mais que seu dente seja utilizado, pode entrar em contato comigo pelo telefone (048) 84811380. Da mesma maneira, garantimos que se você não quiser doar seu dente, isso não lhe trará nenhum tipo de prejuízo. Se você estiver de acordo em fazer a doação, o dente extraído será utilizado somente neste trabalho, não servindo para nenhum outro propósito.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO PARA PESQUISA

Eu, _____, portador da Carteira de Identidade nº _____, por meio deste instrumento, declaro que estou doando o(s) dente(s) _____, o(s) qual(is) foi(ram) extraído(s) por indicação _____, exclusivamente para a realização da pesquisa “**Análise da interface adesiva e resistência de união de materiais obturadores à dentina radicular: Um estudo cimentos endodônticos e métodos observacionais**”, da aluna Maybell Tedesco, estudante do Programa de Pós-Graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Santa

Catarina, sob orientação da Professora Dra. Cleonice da Silveira Teixeira. Declaro, também, que recebi todas as orientações sobre os riscos e objetivos da pesquisa, e que todos os meus dados serão mantidos em sigilo, conforme Resolução CNS 466/2012, que estabelece normas para pesquisa envolvendo seres humanos, assim como, poderei remover o consentimento da pesquisa sem haver penalidade alguma e posso obter informações sobre o andamento da pesquisa através de seu pesquisador responsável (Profa. Orientadora Cleonice da Silveira Teixeira, através do e-mail <cleotex@uol.com.br>; ou pelo pesquisador principal Maybell Tedesco, do e-mail <maybelltedesco@hotmail.com>.

Florianópolis, ___ / ___ / ___.

Assinatura do participante da pesquisa

Maybell Tedesco (Pesquisadora)

Profa. Dra. Cleonice da Silveira Teixeira (Orientadora)

ANEXO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC

PARECER COM SUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise da interface adesiva e resistência de união de materiais obturadores à dentina radicular.

Pesquisador: CLEONICE DA SILVEIRA TEIXEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 42929015.0.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.228.177

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto intitulado - Análise da interface adesiva e resistência de união de materiais obturadores à dentina radicular. Um estudo de diferentes materiais e métodos observacionais, a ser desenvolvido através da análise de amostras já coletadas. Embora os objetivos sejam correlacionados, os experimentos têm metodologias e amostras distintas, assim o presente projeto é composto de 3 subprojetos. Cada subprojeto será detalhado de acordo com os objetivos propostos, receberá análise estatística dos resultados obtidos e discussão embasada na literatura vigente. Para o estudo serão utilizados dentes extraídos de humanos, totalizando uma amostra de 90 dentes, cujas coroas serão removidas e as raízes padronizadas terão seus canais preparados e obturados para a confecção dos corpos de prova. Os cimentos endodônticos testados serão: AH Plus, Endofil e MTA Fillapex. Além disso, os materiais testados terão suas propriedades físico e mecânicas avaliadas após a adição de rodamina B.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal da pesquisa consiste em: analisar a interface adesiva de diferentes cimentos endodônticos à dentina do canal radicular por meio de diferentes métodos observacionais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Quanto aos benefícios, estes são apontados no seguinte sentido: com os dados resultantes da

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Razona II, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Cidade: Trindade **CEP:** 88.040-400
UF: SC **Município:** FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@conitec.ufsc.br

Continuação do Parecer: 1.228.177

pesquisa poderá ser definido qual método observacional é indicado para a análise da Interface adesiva e penetração intratubular dos cimentos endodônticos. Será possível avaliar adaptação e resistência de união dos cimentos endodônticos à dentina radicular. Os riscos indiretos são apontados tanto no projeto quanto no TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto havia ficado pendente por não apontar os riscos, mesmos que indiretos. O que foi sanado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão de acordo com a Res.466/2012.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Folha de Rosto	folha de rosto2.pdf	13/10/2014 17:22:12		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_398860.pdf	10/03/2015 16:47:57		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle22_07_15.docx	22/07/2015 14:24:05		Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_de_doação_22_07_15.docx	22/07/2015 14:24:23		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto enviado ao comite22_07_15.docx	22/07/2015 14:30:19		Aceito
Outros	carta_resposta.docx	22/07/2015 14:57:14		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_398860.pdf	27/07/2015 12:44:55		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Pólo Reitoria 3, R. Daxembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade CEP: 88.045-900
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-8334 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br