



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Marcio Salles Ferreira

Análise comparativa da adaptação marginal, infiltração microbiana e da citotoxicidade em ápices retrobturados com os cimentos Palacos-R e MTA

Rio de Janeiro

2017

Marcio Salles Ferreira

Análise comparativa da adaptação marginal, infiltração microbiana e da citotoxicidade em ápices retrobturados com os cimentos Palacos-R e MTA

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Endodontia.

Orientadores: Prof. Dr. Sandra Rivera Fidel

Prof. Dr. Raphael Hirata Júnior

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB/B

F383 Ferreira, Marcio Salles.
Análise comparativa da adaptação marginal, infiltração microbiana e da citotoxicidade em ápices retrobturados com cimento Palacos-R e MTA / Marcio Salles Ferreira. – 2017.
76 f.

Orientadores: Sandra Rivera Fidel e Raphael Hirata Júnior
Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Apicectomia. 2. Cimentos dentários - Toxicidade. 3. Adaptação marginal dentária. 4. Infiltração dentária. 5. Obturação retrógrada. 6. Materiais restauradores do canal radicular. 7. Microscopia eletrônica de varredura I. Fidel, Sandra Rivera. II. Hirata Júnior, Raphael. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

CDU
616.314

Adriana Caamaño CRB7/5235

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Marcio Salles Ferreira

Análise comparativa da adaptação marginal, infiltração microbiana e da citotoxicidade em ápices retrobturados com os cimentos Palacos-R e MTA

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Endodontia.

Aprovado em 18 de dezembro de 2017.

Orientadores: Prof. Dr. Sandra Rivera Fidel
Faculdade de Odontologia – UERJ
Prof. Dr. Raphael Hirata Júnior
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva
Faculdade de Odontologia - UERJ

Prof. Dr. Marco Antonio Alencar de Carvalho
Faculdade de Odontologia - UERJ

Prof. Dr. Aurimar de Oliveira Andrade
Faculdades São José

Prof. Dr. Luis Claudio Campos
Universidade Veiga de Almeida

Prof.^a Dra. Ana Carolina de Carvalho Maciel
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, a Deus por ter permitido a realização de mais um sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre presente em cada etapa da minha vida.

Aos Professores Raphael Hirata Júnior e Ana Luíza de Mattos Guaraldi da Disciplina de Microbiologia e Imunologia, da Faculdade de Ciências Médicas - Universidade do Estado do Rio de Janeiro (FCM-UERJ), pela generosidade em disponibilizar o Laboratório 3 para a realização da parte experimental desta tese.

Aos Professores Sandra Rivera Fidel, Raphael Hirata Júnior pela confiança e pela excelente orientação. Saibam que vocês acrescentaram muitas coisas boas a minha vida, contribuíram para minha formação profissional e pessoal, por serem pessoas amigas, parceiras, dedicadas, éticas, extremamente competentes, que me incentivaram o tempo todo e só me deram bons exemplos.

Ao professor Rivail Antônio Sergio Fidel, pelo exemplo de dedicação ao magistério, pelo apoio e pelos conselhos durante a elaboração desta tese.

À Professora Luciana Moura Sassone por disponibilizar gentilmente o Laboratório de Pesquisas Microbiológicas e Moleculares da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (FO-UERJ).

Ao avaliador prévio Professor Rivail Antonio Sergio Fidel pelo cuidado na leitura do meu trabalho e pelas relevantes considerações.

Aos demais Professores da Disciplina de Endodontia da FO-UERJ, por terem me recebido de forma acolhedora.

À funcionária e Biomédica Patrícia Mayer Lima que sempre atendeu prontamente as minhas solicitações no Laboratório de Pesquisas Microbiológicas e Moleculares da Disciplina de Endodontia da FO-UERJ para a realização da presente pesquisa.

Aos funcionários da FO-UERJ, em especial ao Sr. José Angelus de Mendonça da Disciplina de Endodontia e a Sra. Denise Pinheiro Muniz da Cruz da Secretaria da Pós-Graduação pela cordialidade e presteza.

Ao meu amigo, Professor Aurimar de Oliveira Andrade, que nasceu para a docência, me motivou a buscar novos caminhos e desafios, e que generosamente abriu as portas e me guiou nos primeiros passos no Laboratório de Endodontia da UERJ.

Aos meus amigos, Professora Ana Carolina De Carvalho Maciel e Aurimar de Oliveira Andrade que colaboraram e participaram de etapas experimentais com competência e dedicação.

Ao mestrando Yuri Faria da FCM-UERJ que nos levou até a UEZO para a confecção das imagens ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

A todos os Professores da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, por todo conhecimento transmitido nas brilhantes aulas ministradas.

Aos colegas de Mestrado e Doutorado da FO-UERJ, que conviveram, compartilharam e se solidarizaram com todos os obstáculos.

À Universidade Veiga de Almeida (UVA) – Faculdade de Odontologia -, pela oportunidade e pela confiança.

À Faculdade São José (FSJ) – Faculdade de Odontologia – pelo apoio e liberação de alguns dias de trabalho.

Aos queridos colegas da Disciplina de Endodontia: Gustavo Ribeiro Alvares, Renato Lies Krebs, Tauby Coutinho, Tereza, Gisele, Renata Costa Vals, Marisa Siciliano, Ália Regina Porto, Luciana Fonseca Borges, Nancy Kudsi De Carvalho, Aurimar de Oliveira Andrade, Riva Marques Campos, Cristina Quelhas, Armando Hayashi .

Aos meus amados familiares que me incentivaram nessa caminhada.

A todos os demais que, direta ou indiretamente, ajudaram na elaboração desta tese.

RESUMO

FERREIRA, Marcio Salles. **Análise comparativa da adaptação marginal, infiltração microbiana e da citotoxicidade em ápices retrobturados com os cimentos Palacos-R e MTA.** 2017. 76f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

O sucesso do tratamento endodôntico está relacionado com uma adequada limpeza, modelagem e um bom selamento do sistema de canais radiculares. A cirurgia parendodôntica é um procedimento que tem como finalidade resolver problemas que não puderam ser solucionados pelo tratamento endodôntico convencional nem pelo retratamento. Essas cirurgias são realizadas através da exposição e remoção dos ápices radiculares, confecção de retrocavitações no longo eixo dos canais radiculares e retrobturações com materiais seladores específicos. Sendo assim, o presente trabalho teve o objetivo de realizar um estudo comparativo dos cimentos MTA (Agregado Trióxido Mineral) e Palacos-R (cimento ósseo) nas retrobturações endodônticas através da avaliação da adaptação marginal, da infiltração microbiana e da citotoxicidade. Para avaliação da adaptação marginal e da capacidade seladora pelo método da infiltração microbiana, foram selecionados 48 caninos superiores permanentes humanos extraídos, instrumentados e obturados. As apicetomias para a remoção dos 3mm apicais das raízes foram realizadas com a utilização da ponta ultrassônica diamantada CVD DENTUS 8.1117. Os retropreparos foram confeccionados com pontas ultrassônicas diamantadas CVD DENTUS 6.1107-E, com 4mm de profundidade. As 28 amostras foram retrobturadas com o cimento ósseo Palacos-R (HERAEUS KULZER) e o cimento MTA cinza (ANGELUS), num total de 14 espécimes para cada cimento testado. A avaliação da adaptação marginal foi realizada pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) com 8 dentes (4 para cada cimento retrobturador). A capacidade seladora foi analisada através de ensaios de infiltração bacteriana com *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), com 10 dentes para o grupo do Palacos-R, 10 dentes para o grupo do MTA cinza, 10 dentes para o grupo controle positivo e 10 dentes para o grupo controle negativo. A avaliação da citotoxicidade foi feita com os eluatos dos cimentos pelo teste MTT, com fibroblastos gengivais de camundongos (células L929). A análise ao MEV mostrou uma melhor adaptação do Palacos-R aos retropreparos do que o MTA cinza. Apesar do Palacos-R ter obtido os menores índices numéricos de infiltração bacteriana, não houve diferença estatisticamente significativa entre ambos. Os dois cimentos não demonstraram atividade citotóxica sobre células L929, contudo nos extratos duplamente concentrados o cimento Palacos-R foi menos citotóxico do que o MTA cinza ($P < 0.0001$). Pôde-se concluir que o Palacos-R apresentou uma melhor adaptação marginal do que o MTA cinza ao MEV, que não houve diferença entre o Palacos-R e o MTA quanto à infiltração microbiana e a citotoxicidade tornando-o um material retrobturador promissor a ser utilizado em Endodontia.

Palavras-chave: Apicectomia. Materiais dentários. Retrobturação. Materiais retrobturadores. Microscopia eletrônica de varredura. Citotoxicidade.

ABSTRACT

FERREIRA, Marcio Salles. **Comparative analysis of marginal adaptation, microbial leakage and cytotoxicity in apices in retrofills with cements Palacos-R and MTA.** 2017. 76f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2017.

The success of endodontic treatment is related to a proper cleaning, and a good seal of root canal system. Paraendodôntic surgery is a procedure that aims to solve problems that couldn't be solved by conventional endodontic treatment. These surgeries are performed by exposing and removing the root tips, making retrocavitations on the long axis of the root canals, and retrofilling with specific sealant materials. Thus, the present work had the objective of performing a comparative study of MTA (Mineral Trioxide Aggregate) and Palacos-R (bone cement) cements in endodontic retrofillings through the evaluation of marginal adaptation, microbial infiltration and cytotoxicity. To evaluate the marginal adaptation and the sealing ability by the microbial infiltration method, 48 human permanent upper canines were selected, instrumented and obturated. The apicectomies for removal of the apical 3mm from the roots were performed using the diamond ultrasound tip CVD DENTUS 8.1117. The retroprepares were made with ultrasonic CVD DENTUS 6.1107-E diamond tips, 4mm deep. The 28 samples were retrobured with the Palacos-R (HERAEUS KULZER) cement and the gray MTA cement (ANGELUS), in a total of 14 specimens for each cement tested. The evaluation of the marginal adaptation was performed by scanning electron microscopy (SEM) with 8 teeth (4 for each retroburst cement). Sealing capacity was analyzed through bacterial infiltration assays with *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), with 10 teeth for the Palacos-R group, 10 teeth for the gray MTA group, 10 teeth for the positive control group and 10 teeth for the the negative control group. Cytotoxicity evaluation was performed with the eluates of the cements by the MTT test, with mouse gingival fibroblasts (L929 cells). The SEM analysis showed a better adaptation of the Palacos-R to the retroprepares than the gray MTA. Although Palacos-R had the lowest numerical rates of bacterial infiltration, there was no statistically significant difference between the two. The two cements did not demonstrate cytotoxic activity on L929 cells, however in the doubly concentrated extracts the Palacos-R cement was less cytotoxic than the gray MTA ($P < 0.0001$). It was concluded that the Palacos-R presented a better marginal adaptation than the gray MTA to the SEM, that there was no difference between the Palacos-R and the MTA in terms of microbial infiltration and cytotoxicity, making it a promising retrofilling material to be used in Endodontics.

Keywords: Apicectomy. Dental materials. Retrofilled. Retrofilling material. Scanning electron microscopy. Cytotoxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Avaliação dos dentes infiltrados e não infiltrados.....	45
Figura 2-	Suspensão bacteriana sendo colocada no Eppendorf	45
Figura 3-	Suspensão bacteriana já colocada no Eppendorf	46
Figura 4-	Câmara de fluxo laminar preparada para pesquisa	46
Figura 5-	Amostra sendo armazenada na estufa a 37°C	47
Gráfico 1-	Percentuais de viabilidade de células L929 submetidas a concentrações de 4x a eluição convencional estabelecida pela ISO durante 72 horas de eluição.....	48
Figura 6-	Atividade citotóxica de extratos de MTA formulação cinza sobre células L929	49
Figura 7-	Microscopia eletrônica de varredura	50
Figura 8-	Microscopia eletrônica de varredura	50
Figura 9-	Microscopia eletrônica de varredura	50
Figura 10-	Microscopia eletrônica de varredura	51
Figura 11-	Microscopia eletrônica de varredura	51
Figura 12-	Microscopia eletrônica de varredura	52
Figura 13-	Microscopia eletrônica de varredura	52
Figura 14-	Microscopia eletrônica de varredura	53
Figura 15-	Microscopia eletrônica de varredura	53
Figura 16-	Microscopia eletrônica de varredura	54
Figura 17-	Microscopia eletrônica de varredura	54
Figura 18-	Microscopia eletrônica de varredura	55
Figura 19-	Microscopia eletrônica de varredura	55
Gráfico 2-	Comparação do grupo controle + com os demais cimentos em relação com os dias	57
Quadro 1	Comparação dos cimentos com os dias da infiltração.....	57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Infusão cérebro coração
bpBHI	Infusão cérebro coração with bromocresol purple
bpPYG	Peptone-yeast extract-glucose broth with bromocresol purple
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CDR	Comprimento do dente na radiografia
CT	Comprimento de trabalho
CTP	Comprimento de trabalho provisório
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>F. alocis</i>	<i>Filifactor alocis</i>
FO	Faculdade de Odontologia
FISH	Hibridização de fluorescência <i>in situ</i>
GG	Gates Glidden
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IRM	Material Restaurador Intermediário
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MTA	Agregado Trióxido Mineral
MTT	Teste de viabilidade celular
<i>P. alactolyticus</i>	<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>
<i>P. propionicum</i>	<i>Propionibacterium propionicum</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PYG	<i>Peptone-yeast extract-glucose broth</i>

SCR	Sistema de canais radiculares
TC	Tetrasilicate cements
TSB	Trypticase soy broth
UERJ	Universidade Estadual do Rio de Janeiro
XRD	Difração de RX

LISTA DE SÍMBOLOS

pH	Potencial hidrogeniônico
Ca (OH) ₂	Hidróxido de cálcio
I125	Iodo-125
Mm	Milímetro
Nº	Número
SiO ₂	Dióxido de silício
mL	Mililitros
®	Marca registrada
NiTi	Níquel-titânio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
rpm	Rotações por minuto
°C	Graus centígrados
N	Newton
K ₂ O	Óxido de potássio
µl	Microlitros
g/mol	Grama por molécula

SUMÁRIO

	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	13
1	Propriedades físicas e químicas	15
1.1	Atividade citotóxica, biocompatibilidade e resposta inflamatória	19
1.2	Capacidade seladora	25
1.3	Análise do selamento endodôntico por métodos de infiltração microbiana	28
1.3.1	<u>Infiltração microbiana</u>	31
2	PROPOSIÇÃO	35
3	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1	Material	36
3.1.1	<u>Material para a metodologia da atividade citotóxica</u>	36
3.1.2	<u>Material para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</u>	37
3.1.3	<u>Material para avaliação da capacidade seladora</u>	37
3.2	Métodos	40
3.2.1	<u>Atividade citotóxica das preparações de MTA e do Palacos-R</u>	40
3.2.2	<u>Metodologia do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)</u>	41
3.2.3	<u>Metodologia da capacidade seladora</u>	41
4	RESULTADOS	48
4.1	Citotoxicidade para células L929	48
4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	49
4.3	Capacidade seladora através de testes de infiltração	56
5	DISCUSSÃO	58
	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	68
	ANEXO – Comitê de Ética em Pesquisa	76

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O sucesso da terapia endodôntica está relacionado ao correto diagnóstico, tratamento e restauração da coroa do dente com a finalidade de impedir a contaminação dos canais radiculares (CARR, 1992; RUBINSTEIN, 2005). No entanto, as falhas neste processo podem estar relacionadas à anatomia do canal e da região perirradicular, que podem apresentar ramificações, favorecendo a permanência do biofilme intraradicular e perirradicular dificultando o selamento hermético do sistema de canais radiculares (SCR) (RUBINSTEIN, 2005). As iatrogenias ocorridas durante o tratamento endodôntico, tais como: desvios, perfurações, extravasamentos de materiais obturadores e fraturas de instrumentos são outras possíveis causas de insucesso (NAKAZONE et al., 2007).

O preparo químico-cirúrgico se destina a eliminar ou reduzir drasticamente a microbiota através do emprego de instrumentos apropriados e da ação coadjuvante de soluções irrigadoras. Essa etapa visa preparar o canal para a realização de um adequado selamento tridimensional. Nos casos de insucesso, o tratamento de escolha deverá ser o retratamento endodôntico, antes da indicação cirúrgica. Quando o retratamento for realizado sem sucesso ou não for possível deve-se indicar a cirurgia parendodôntica.

O material retrobturador deverá promover um perfeito selamento apical, devendo possuir atividade antimicrobiana, ser biocompatível e capaz de evitar a migração de micro-organismos para os tecidos perirradiculares e vice-versa. A qualidade do selamento apical é considerada uma propriedade fundamental na obtenção do sucesso (THEODOSOPOULOU; NIEDERMAN, 2005). Quanto às perfurações e retrobturações o material deveria possuir também algum efeito bactericida ou bacteriostático (FERRIS; BAUMGARTNER, 2004; HERNANDEZ et al., 2005; HOLT et al., 2007; STOWE et al., 2004; TORABINEJAD et al., 1995a), contudo o MTA possui ação antimicrobiana apenas sobre algumas espécies de micro-organismos (AL-HEZAIMI et al., 2006; ESTRELA et al., 2000; MAZUREK et al., 2012; MOHAMMADI; MODARESI; YAZDIZADEH, 2006; RIBEIRO et al., 2006, 2010; TORABINEJAD et al., 1995a; ZHANG; PAPPEN; HAAPASALO, 2009).

A espécie *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) é considerada de grande relevância em Endodontia pelo fato de apresentar resistência aos antimicrobianos, medicações intracanaís e soluções irrigadoras, sendo comumente encontrada em infecções perirradiculares, principalmente nos casos de canais já tratados endodonticamente (STUART et al., 2006). Estes microrganismos quando colonizam os canais radiculares, são capazes de sobreviver,

utilizando-se provavelmente dos substratos oriundos dos fluidos dos tecidos conjuntivos subjacentes (osso alveolar e ligamento periodontal). Dentre os fatores de virulência destacam-se as enzimas líticas, citolisinas, substâncias de agregação, feromônios e ácido lipoteicóico.

O *E. faecalis* pode interferir com a ativação dos linfócitos e outros grupos celulares, contribuindo para o fracasso endodôntico (LEE; LIM; SON, 2004). Além da sua habilidade para invadir e permanecer no interior dos túbulos dentinários, apresenta elevada resistência aos curativos de demora utilizados entre sessões, inclusive aqueles à base de hidróxido de cálcio. Foi descrito que as cepas de *E. faecalis* possuem uma bomba de prótons capaz de proteger o citoplasma bacteriano do elevado pH conferido pelos produtos contendo hidróxido de cálcio. A espécie também é capaz de formar biofilmes onde as células bacterianas formam estruturas multicelulares coesas de difícil remoção pelo sistema imunológico, além de dificultar a atividade dos agentes antimicrobianos. Tais propriedades conferem a esse micro-organismo grande poder agressivo aos tecidos perirradiculares e maior resistência ao controle das infecções endodônticas (MC HUGH; ZANG; MICHALEK, 2004).

Diante das evidências apresentadas, se faz necessário investigar e comparar a eficácia dos materiais retrobturadores considerados padrão ouro, como o MTA, com novas formulações. A presente pesquisa comparou o agregado trióxido mineral com o cimento ósseo Palacos-R quanto à adaptação marginal e a capacidade seladora na prevenção da percolação e a citotoxicidade.

1 Propriedades físicas e químicas

O MTA foi desenvolvido no início da década de 90, por Mohamoud Torabinejad nos Estados Unidos (Universidade de Loma Linda, Califórnia). Basicamente, é um pó que endurece em presença de umidade, composto de finas partículas hidrofílicas, cujos componentes principais são silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico, óxido de silicato, além do óxido de bismuto que tem a finalidade de conferir-lhe algum grau de radiopacidade (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993).

A composição química, o potencial hidrogeniônico (pH) e a radiopacidade do agregado trióxido mineral foram determinados e o tempo de presa, a resistência à compressão e a solubilidade comparados com o amálgama, o Super-EBA, e o cimento IRM (*Intermediate Restorative Material*). Os resultados mostraram que as principais moléculas presentes no MTA são os íons de cálcio e fósforo, principais componentes dos tecidos dentais. Além disso, ele apresentou um pH inicial de 10,2 que aumentou após três horas para 12,5 quando então permaneceu constante e mostrou-se mais radiopaco que o Super-EBA e o IRM. O amálgama apresentou o menor tempo de presa (4 minutos) e o agregado trióxido mineral o maior (2 horas e 45 minutos). Nas primeiras 24 horas, o MTA teve a menor resistência à compressão (40MPa), que aumentou após 21 dias para 67 MPa, porém todos os materiais testados aumentaram a resistência compressiva após esse período, sendo que a do Super-EBA foi maior do que a do IRM ($P < 0.05$), e que não houve diferença significativa entre o Super-EBA e o MTA. O cimento IRM foi o único material que apresentou solubilidade. Com base nesses resultados, os autores concluíram que o MTA possui propriedades físicas adequadas para ser usado como material retrobturador (TORABINEJAD et al., 1995e). Em 1998, o MTA de coloração cinza foi aprovado pela FDA (*US Food and Drugs Administration*) e lançado comercialmente em 1999, por intermédio da Dentsply/Tulsa Dental (Oklahoma, EUA).

Os pesquisadores C. Peters e O. Peters (2002) realizaram um estudo com microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um simulador de mastigação computadorizado simulando o equivalente a cinco anos de força mastigatória, para verificar se a carga oclusal altera a adaptação marginal do Super-EBA e do MTA (ProRoot) nas retrobturações ou se promove o aparecimento de microfissuras. Vinte e quatro molares humanos extraídos foram obturados pela técnica da condensação lateral e suas raízes seccionadas. As retrocavidades foram preparadas, os dois materiais testados inseridos e analisados ao MEV antes e após a aplicação do simulador de carga. Antes da aplicação da força observou-se uma margem

contínua de Super-EBA (99.4%) e MTA (99.2%), mas após a carga essa porcentagem caiu ligeiramente para (93.1%) e (98.9%), respectivamente. Após a carga 39.5% das retrobturações com Super-EBA tornaram-se sobreobturadas, enquanto que 52.6% das retrobturações com MTA ficaram subobturadas. No total, em 12.5% das raízes houve microfissuras antes da carga que aumentou para 25% após. Os resultados indicaram que os dois materiais testados, mesmo após recebimento de carga, apresentam alta qualidade de adaptação.

Encontram-se no mercado duas principais apresentações de MTA: cinza e branco. Entretanto, a formulação branca se mostra mais estética devido à ausência de alumínio ferrítico tetracálcio (FERRIS; BAUMGARTNER, 2004). Tanto o MTA cinza quanto o branco têm 75% de cimento Portland, porém a diminuição significativa da quantidade de ferro na formulação branca poderia afetar a expansão deste material. Uma possível razão para a maior capacidade seladora do MTA seria a sua ligeira expansão de presa. Sendo assim, Storm et al. (2008) compararam a expansão higroscópica linear de presa do MTA cinza, do MTA branco e do cimento Portland. Os materiais foram manipulados com água, colocados em moldes cilíndricos e cobertos com água estéril ou solução salina balanceada Hanks (HBSS). As alterações nas expansões foram medidas, sendo que após 24 horas, os valores foram 1.02% para o MTA cinza, 0.29% para o cimento Portland e 0.08% para o MTA branco no grupo imerso em água e 0.68% para o MTA cinza e 0.11% para o branco no grupo imerso em solução Hanks. Os autores concluíram que a formulação cinza expandiu mais que a branca e o cimento Portland.

O trabalho de Gonçalves et al. (2010) verificou o pH e a condutividade elétrica dos cimentos Portland (branco estrutural, branco não estrutural e cinza da marca Votorantin) e MTA (BIO Angelus e ProRoot branco), bem como a quantidade de arsênico e cálcio lançados por estes materiais. Em moldes de Teflon, as amostras de cada material foram agitadas e adicionadas a frascos de plástico contendo água destilada por 3, 24, 72 e 168 horas. Os resultados foram analisados estatisticamente e não houve diferença no pH e na condutividade elétrica ($P > 0.05$). O cimento Portland branco não estrutural, que contém menores quantidades de gesso e *clincker* (substância que aumenta a resistência e diminui a solubilidade do mesmo) e o MTA BIO, lançaram as maiores quantidades de cálcio na solução ($P < 0.05$), enquanto o arsênico lançado foi insignificante para todos os materiais testados ($P > 0.05$). Os cimentos Portland e MTA produziram um meio alcalino, apresentaram propriedades físico-químicas semelhantes, e foram considerados seguros para uso clínico.

A análise da presença de metais pesados na composição do MTA também foi motivo de estudo para Chang et al. (2011). Eles compararam os níveis de arsênico, cromo, cromo

hexavalente e chumbo presentes no Ortho MTA (BioMTA, Seoul, Republic of Korea), um produto que de acordo com o fabricante apresenta composição semelhante ao ProRoot, porém contendo menos metais pesados, e no ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK). Um grama de cada substância foi digerida usando uma mistura de ácidos clorídrico e nítrico filtrados. Os autores observaram que a concentração de arsênico no ProRoot MTA foi de 1.16 ppm, mas tal substância não foi detectada no Ortho MTA. O cromo hexavalente e o chumbo não foram detectados nos dois cimentos, e o Ortho MTA apresentou menos Cromo ($P < 0.05$). Portanto, os dois biomateriais atenderam às especificações ISO 9917-1 em relação aos limites de segurança do arsênico e do chumbo e foram considerados seguros.

Uma nova geração de material endodôntico com potencial para retrobturações tem sido desenvolvida e testada para uso clínico. Com esse propósito, Bird et al. (2012) compararam a capacidade de penetração nos túbulos dentinários e examinaram a interação de dois produtos com um fluido tecidual sintético e as paredes dos canais radiculares de dentes humanos extraídos. Utilizaram o Caspasio (Primus Consulting, Bradenton, FL), um material a base de cálcio-fósforo-aluminossilicato manipulado com um gel, que segundo o fabricante endurece mais rápido e possui propriedades físicas semelhantes ou melhores do que o agregado trióxido mineral, e o MTA branco ProRoot (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK). Os retropreparos foram preenchidos com as duas substâncias e permaneceram em um fluido tecidual sintético por quatro semanas quando foram então seccionados a 1, 2 e 3 mm para avaliação da profundidade de penetração. A seguir, as amostras foram preparadas em forma de pelotas com 1g de cada material. Os espécimes permaneceram em um fluido tecidual sintético até a presa e foram analisados através do MEV, das técnicas de análise por energia dispersiva de raios X e pela difração de raios X. Os resultados mostraram que a penetração do Caspasio nos túbulos dentinários foi observada em todos os níveis, o que não ocorreu com o MTA. Porém, ambos formaram cristais de apatita, similares em estrutura e composição, sobrenadantes, nas superfícies expostas e nas camadas interfaciais. Os autores ressaltaram que mais estudos deverão ser realizados para o uso clínico desse novo material.

A capacidade de presa do MTA e outro material biocerâmico reparador radicular em presença de umidade foi testada por Charland et al. (2013). O *EndoSequence Root Repair Material Putty* (ESRRM) (Brasseler USA, Savannah, GA) foi desenvolvido para ser usado no lugar do MTA com a vantagem de obter presa mais rápida e ser de fácil uso de acordo com o fabricante. Esse novo material é composto de silicatos de cálcio, óxido de zircônia, óxido de tântalo e cálcio fosfato monobásico, vem acondicionado em pacotes, pronto para uso e injetável. Um modelo foi criado usando blocos de polimetilmetacrilato, cada um com dez

poços estandardizados (2 mm de diâmetro por 3 mm de profundidade). Após a manipulação, os materiais foram colocados em seis blocos cada e as amostras distribuídas em quatro diferentes meios (sangue, meio minimamente essencial, uma mistura dos dois e solução salina como controle). Cada bloco permaneceu submerso por 4, 5, 6, 8, 24, 36, e 48 horas, a 37° C e 100% de umidade. Os resultados revelaram que independentemente do meio usado, nenhum dos dois materiais teve presa até um período entre 4 a 6 horas. O EndoSequence não obteve presa em 48 horas, mas todas as amostras de MTA obtiveram presa em 36 horas. Pôde-se concluir, que nas condições experimentais descritas, o tempo de presa do MTA foi mais rápido que o EndoSequence.

A comparação da microdureza do Bioagregado, do ProRoot MTA e do cimento CEM foi realizada, quando expostos a um meio ácido ou a uma solução salina tamponada (PBS-*phosphate-buffered saline*). O *BioAggregate* (*Innovative Bioceramix*, Vancouver, BC, Canadá) é um cimento cerâmico branco composto primariamente de silicato de cálcio, hidróxido de cálcio, e hidroxiapatita, não contendo alumínio nem bismuto, que tem se mostrado biocompatível, com boas propriedades seladoras e semelhante ao MTA contra *Enterococcus faecalis*. O cimento CEM (Yektazdandan; Bionique Dent, Tehran, Iran) é tipo MTA, composto basicamente de silicato de cálcio, biocompatível, com boas características de manipulação, que previne percolação microbiana e promove um selamento efetivo. Noventa moldes cilíndricos de polimetilmetacrilato com um diâmetro interno de 6 mm e 4 mm de altura (ASTM E384-padronizados para micro dureza) foram fabricados e preenchidos, sendo 30 amostras para cada material. Cada grupo foi dividido em três grupos de 10 espécimes para água destilada, 10 para o meio PBS (pH=7.4) e 10 expostos ao ácido butírico (pH=5.4). Após uma semana, o teste de microdureza Vickers foi realizado. Os espécimes contendo CEM expostos ao ácido não foram legíveis por falta de presa. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre a microdureza dos materiais independentemente das condições do meio ($P < 0.001$). Em todos os meios o MTA teve os maiores valores para microdureza e o CEM os menores ($P < 0.001$). Todos os cimentos tiveram a microdureza aumentada no PBS ($P < 0.001$) e diminuída no meio ácido ($P < 0.001$). Em todas as condições experimentais o ProRoot MTA obteve os maiores valores para microdureza (BOLHARI et al., 2014).

Um material que apresenta conjuntamente propriedades de vedamento e biocompatibilidade com os tecidos periodontais, atóxico, reparador, inerte, radiopaco, não absorvível, bactericida ou bacteriostático, fácil uso e obtenção, ter boa aderência à dentina, induzir osteogênese e cementogênese, além de ter bom selamento marginal, é o MTA, conforme observa-se na literatura. (PEREIRA et al., 2017). Apesar de apresentar

similaridades químicas e biológicas em relação aos compostos à base de Hidróxido de Cálcio, o MTA oferece algumas vantagens como a formação de uma camada que apresenta maior resistência mecânica, maior potencial selador da cavidade e baixa solubilidade ao meio bucal. (LAVÔR et al., 2017). As nanopartículas de agregado trióxido mineral branco ou white mineral trioxide aggregate (NWMTA) são partículas de agregado trióxido mineral (MTA), um cimento que vem sendo utilizado principalmente pela capacidade de manter o pH elevado e pela liberação de íons cálcio, proporcionando atividade antibacteriana e regeneração dos tecidos. A versão nano modificada é usada na tentativa de tornar a presa do cimento MTA mais rápida e com resistência a ambientes ácidos. Um aumento da área superficial do pó pode reduzir o tempo de presa e aumentar a microdureza mesmo em ambientes de pH ácido após a hidratação. Analisando o efeito do pH sobre a solubilidade do cimento MTA branco e cimento de NWMTA, devido às suas pequenas partículas e seus diferentes aditivos, o cimento de NWMTA é capaz de produzir uma menor porosidade no material, gerando maior resistência a ambientes ácidos. WMTA e NWMTA mostram maior resistência após exposição a forças nano-compressivas em comparação ao Bioaggregate. (TELLES, PRADO, SIMÃO, 2017)

1.1 Atividade citotóxica, biocompatibilidade e resposta inflamatória

Devido ao íntimo contato dos materiais retrobturadores com os tecidos perirradiculares, Torabinejad et al. (1995b) testaram *in vitro* a citotoxicidade de quatro materiais (amálgama, Super-EBA, IRM e MTA), pelos métodos de cobertura em agar e radiocromo, com células de camundongo L929. A análise estatística dos dados pelo método de cobertura em agar mostrou que o amálgama, tanto o recém manipulado quanto o pós-presa, foi menos tóxico do que os demais materiais testados, sendo que o MTA, tanto o fresco quanto o endurecido, ficou em segundo lugar. Pelo método radiocromo o grau de citotoxicidade do MTA foi menor seguido do amálgama, do Super-EBA, e do IRM. Esta pesquisa viabilizou o emprego do MTA como um material retrobturador em potencial. A partir daí, os autores sugeriram que fossem realizados novos estudos *in vivo*.

A reação tecidual do Super-EBA e do MTA em mandíbulas de cobaios foi examinada por Torabinejad et al. (1995f). Após anestésiar os sete animais, levantou-se um retalho e realizou-se o preparo de duas cavidades no osso que receberam implantes de copos de teflon preenchidos com os materiais testados. Outras duas cavidades ósseas foram realizadas, mas

não receberam implantes de materiais e ficaram cicatrizando como controles negativos. A presença de inflamação, os tipos celulares predominantes e a espessura de tecido conjuntivo fibroso adjacente a cada implante, foram registrados. A reação tecidual ao MTA foi ligeiramente mais branda do que a observada com o Super-EBA. Baseados nestes resultados, os autores observaram que ambos foram biocompatíveis.

A resposta tecidual perirradicular também foi testada em cães da raça beagle e lesões perirradiculares foram desenvolvidas nos tecidos de 46 raízes. As avaliações histológicas realizadas após a cirurgia parodontal, no período de 2 a 5, e de 10 a 18 semanas, demonstraram menor inflamação perirradicular e maior formação de cápsula fibrosa adjacentes ao MTA, em comparação ao amálgama. Além disso, a presença de cimento na superfície do MTA foi um achado freqüente (TORABINEJAD et al., 1995d).

Torabinejad et al. (1997) avaliaram histologicamente a resposta dos tecidos perirradiculares de macacos frente a dois materiais retrobturadores (MTA e amálgama). Os canais não infectados dos incisivos superiores de três macacos foram preparados e obturados pela técnica da condensação lateral com guta-percha e cimento e as cavidades de acesso seladas. Após uma semana, foi realizada a cirurgia perirradicular e as amostras foram retrobturadas com os dois materiais testados. A resposta tecidual foi analisada histologicamente cinco meses depois e os resultados mostraram que além de não haver inflamação perirradicular em cinco das seis retrobturações com MTA ocorreu a formação de uma camada de cimento sobre esse material. Em contrapartida, todas as amostras obturadas com amálgama mostraram inflamação perirradicular sem deposição de cimento. Baseados neste experimento e nos previamente realizados, os autores apoiaram o uso do MTA como material retrobturador em humanos.

Outro estudo de Torabinejad et al. (1998) examinou a reação tecidual de quatro materiais retrobturadores (MTA, amálgama, IRM e Super-EBA) pela implantação dos mesmos em tíbias e mandíbulas de cobaias. Após anestésiar os 20 animais, realizou-se a divulsão tecidual e o preparo das cavidades ósseas para a implantação dos copos de Teflon contendo os materiais testados nas tíbias e 10 dias depois, nas mandíbulas. Os animais sofreram eutanásia após 80 dias e os tecidos foram preparados para avaliação histológica. A reação tecidual para a implantação com o MTA foi mais favorável quando comparada com os outros materiais testados nos dois sítios, sem presença de inflamação. Nas tíbias, o MTA proporcionou uma aposição óssea direta em cinco dos 11 espécimes, e nas mandíbulas em uma das 10 amostras mostrando-se um material biocompatível.

A reação do tecido conjuntivo de ratos após implante de tubos de dentina preenchidos com hidróxido de cálcio e MTA foi observada por Holland et al. (1999). Os animais foram sacrificados após sete e 30 dias, e os espécimes preparados para estudo morfológico. Análise histológica com luz polarizada e técnica de Von Kossa mostrou resultados semelhantes para os dois materiais, pois havia grânulos birrefringentes, Von Kossa positivo nas aberturas dos tubos e próximo a essas granulações havia um tecido irregular como uma ponte, Von Kossa positivo. As paredes de dentina dos tubos exibiram no interior dos túbulos uma camada com diferentes profundidades de uma estrutura birrefringente a luz polarizada. Os autores atribuíram os resultados semelhantes a uma possível similaridade no mecanismo de ação do hidróxido de cálcio e do MTA. Holland et al. (2001) realizaram um experimento idêntico comparando MTA, cimento Portland e hidróxido de cálcio, e os resultados também foram similares para os três materiais. Outra pesquisa nos mesmos moldes foi realizada por Holland et al. (2002), frente ao MTA branco e os resultados foram similares aos apresentados para o MTA cinza, indicando que o mecanismo de ação para as duas formulações deve ser semelhante.

Os efeitos do MTA no crescimento dos cementoblastos e na produção de osteocalcina foram pesquisados. Para o estudo da morfologia celular, cementoblastos foram incubados sobre MTA, IRM e amálgama por 48 horas e fixados para análise ao MEV. Para expressão do gene no MTA e no IRM, reação em cadeia com transcriptase reversa polimerase foi realizada após três e cinco dias. A expressão da matriz protéica foi analisada por um microscópio confocal para a presença de osteocalcina sobre o MTA após sete e 12 dias. As imagens foram comparadas com os controles para se obter uma diferença qualitativa. Os resultados mostraram que o MTA permite adesão, crescimento dos cementoblastos, e a produção de matriz mineralizada, sendo considerado um material cementocondutivo (THOMSON et al., 2003).

A citotoxicidade de duas marcas de MTA (ProRoot e Angelus), e do cimento Portland em células endoteliais humanas (ECV304) foi comparada por De Deus et al. (2005). Os efeitos dos materiais nas funções mitocondriais foram medidos por um teste colorimétrico. A cada período experimental (24, 48, e 72 horas) um teste *dimethyl-thiazol-diphenyl tetrazolium bromid* (MTT) foi realizado para medir a viabilidade celular. Todos os experimentos foram repetidos três vezes e os resultados expressos em níveis de absorbância (A_{570nm}). Não houve diferença estatística significativa entre os materiais testados ($P > 0.05$). As duas marcas de MTA analisadas e o cimento Portland, inicialmente mostraram um elevado efeito citotóxico

que diminuiu gradativamente com o tempo permitindo o restabelecimento da cultura de células.

O efeito citotóxico do MTA branco (Angelus) em cultura de odontoblastos (MDPC-23) foi avaliado por Frederico et al. (2006). Os corpos de prova foram preparados e imersos em meio de cultura (DMEM) puro após uma hora (presa incompleta) ou quatro horas (presa completa) de sua manipulação, onde permaneceram pelos períodos de 24 horas ou sete dias. Células MDPC-23 (30000 células/cm²) foram cultivadas em placas de 24 compartimentos, e após 72 horas de incubação, o meio DMEM foi aspirado e substituído pelos extratos obtidos do MTA branco. Nos grupos controle, DMEM puro foi utilizado. O pH dos extratos e do DMEM puro foram determinados, mostrando uma baixa variação entre os grupos (de 8,4 até 8,9). Após a análise colorimétrica do *Metiltetrazolium* (teste do MTT) e morfológica ao MEV, os resultados obtidos não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais e entre estes e os controles. Os autores concluíram que o tempo de presa e de armazenamento do cimento MTA branco em líquido não interferiram negativamente no metabolismo celular, demonstrando insignificante efeito citotóxico do material. Lessa et al. (2010) também testaram o MTA branco (Angelus) e uma nova formulação (MTA-Bio) pelo teste do MTT em células odontoblastóides e os resultados mostraram que ambos tiveram reduzido efeito citotóxico, morfologia e organização celular semelhantes em todos os grupos. O tempo de imersão dos espécimes no meio (quatro horas ou sete dias) não influenciou na citotoxicidade dos cimentos, porém ao MEV, o MTA-Bio mostrou uma superfície irregular e com mais porosidades que o MTA branco.

Três materiais retrobturadores: ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Memphis, TN), MTA Angelus (Angelus, Londrina, Brasil), e um cimento a base de óxido de zinco e eugenol modificado (Super-EBA; Bosworth Co, Skokie, IL) foram avaliados e comparados por Samara et al. (2011) em fibroblastos de ligamento periodontal humano. A viabilidade foi determinada pelo teste de exclusão *trypan blue*, a proliferação celular foi quantificada e a morfologia observada por um microscópio confocal. Além disso, agregados de células do ligamento periodontal foram cultivados nas superfícies dos substratos para avaliar adesão celular. O MTA ProRoot mostrou-se mais biocompatível e o Super-EBA mais citotóxico por inibir significativamente o crescimento celular e a aderência dos fibroblastos. Na presença do MTA ProRoot a proliferação dos fibroblastos do ligamento periodontal permaneceu inalterada. O MTA Angelus foi mais citotóxico do que o ProRoot, porém mostrou-se excelente quanto a adesão celular. Os resultados mostraram que os cimentos a base de MTA tiveram ligeiro ou nenhum efeito citotóxico.

A reação do tecido ósseo frente ao MTA e ao CEM em fêmur de ratos foi estudada por Rahimi et al. (2012). Sessenta e três ratos foram selecionados e randomicamente divididos em três grupos de 21 cada (grupos experimentais n=15 e controle n=6). As cavidades de implantação foram preparadas em cada osso femoral e preenchidas com os biomateriais nos grupos experimentais. Os animais foram sacrificados após uma, quatro e oito semanas. As análises histológicas comparando a severidade da inflamação e a neoformação óssea, foram realizadas cegamente nas amostras coradas com hematoxilina e eosina descalcificadas. Nas primeira, quarta e oitava semanas após a implantação, o número de células inflamatórias diminuiu no CEM, MTA e nos grupos controles respectivamente, e a neoformação óssea aumentou sem diferenças estatisticamente significativas. Os resultados sugerem que as biocompatibilidades do MTA, como padrão ouro, e do CEM, como um novo biomaterial foram semelhantes e satisfatórias.

As células MG-63 derivadas de osteosarcoma humano foram utilizadas por Lee et al. (2012) para comparar 4 materiais retrobturadores: cimento de ionômero de vidro (GIC; Fuji II, GC Corp, Tokyo, Japan), cimento de óxido de zinco e eugenol reforçado (IRM; Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK), e dois tipos de MTA (ProRoot e Ortho MTA) quanto a atividade citotóxica. Para quantificar a citotoxicidade utilizou-se o teste XTT (*2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide*). A viabilidade celular foi medida pela densidade ótica de cada poço teste comparada ao controle. Cada espécime foi examinado ao MEV para observação da morfologia celular. O teste XTT mostrou que a viabilidade celular do MTA ProRoot (Dentsply Tulsa Dental) foi maior do que o ionômero e o Ortho MTA (BioMTA, Seoul, Republic of Korea), sendo que o IRM mostrou a menor viabilidade. O MEV revelou células alongadas, densas e confluentes nas culturas expostas aos cimentos de ionômero de vidro, Ortho MTA, e ProRoot MTA, no entanto, as células em contato com o IRM mostravam-se arredondadas, em menor número e densidade.

A biocompatibilidade e o potencial odontogênico do Bioagregado, do Micromega MTA, do ProRoot MTA e do IRM usando células de polpas dentárias humanas foram pesquisados por Chang et al. (2014). A biocompatibilidade foi avaliada através do teste *3-(4,5-dimethylthiazolyl-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide* e do MEV. A diferenciação foi analisada pela atividade da fosfatase alcalina, corante vermelho de alizarina e reação em cadeia da transcriptase-polimerase reversa para marcar genes. Os níveis de mediadores inflamatórios e citocinas foram medidos pela reação em cadeia da transcriptase-polimerase reversa e pelo teste *enzyme-linked immunoabsorbent*. ProRoot MTA, Bioagregado, e Micromega MTA exibiram boa biocompatibilidade, aumentaram a atividade da fosfatase

alcalina, promoveram a formação de mineralizações nodulares e aumentaram o nível de expressão do RNA mensageiro dos marcadores osteogênicos / odontogênicos, enquanto o IRM mostrou-se citotóxico. Os níveis de citocinas e mediadores pró inflamatórios foram menores no ProRoot MTA, Bioagregado, e Micromega MTA comparados ao IRM.

Devido à sua biocompatibilidade, o MTA também tem sido utilizado nos protocolos de revascularização em dentes permanentes jovens, com polpas necrosadas e ápices abertos. Após a desinfecção do sistema de canais radiculares com uma pasta triantibiótica (ciprofloxacina, metranidazole e minociclina), o seu preenchimento com sangue dos tecidos perirradiculares é induzido, faz-se o selamento da porção cervical do canal com MTA e por fim a restauração coronária com resina adesiva. Três casos de reabsorção radicular inflamatória externa, pós-trauma nos quais se utilizou o protocolo de revascularização foram relatados por Santiago et al. (2015). O acompanhamento clínico e radiográfico mostrou a paralisação dos processos de reabsorção externa e a atenuação dos processos patológicos. Estes aspectos mostram que o MTA, de fato, não induz reações pró inflamatórias.

Avaliar a radiopacidade, a ação antimicrobiana, a estrutura de superfície e a composição química do cimento Portland (CP) associado a diferentes concentrações de óxido de cálcio foi o objetivo do estudo realizado por Siqueira et al. (2017). Os autores testaram o MTA, CP cinza e CP acrescido de óxido de cálcio nas concentrações de 1%, 2%, 5% e 10%. Para a análise da radiopacidade, os materiais foram introduzidos em placas de acrílico posicionadas ao lado de um penetrômetro de alumínio. A avaliação da ação antimicrobiana foi realizada por meio do teste de difusão em Ágar, com os microrganismos: *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. Subtilis* e *C. albicans*. A avaliação da estrutura de superfície foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) e a identificação dos elementos químicos foi realizada por espectroscopia de energia dispersiva. Resultados: O MTA apresentou valores de radiopacidade acima do degrau 3 da escada de alumínio, enquanto o CP acrescido de diferentes concentrações de óxido de cálcio evidenciaram valores de radiopacidade abaixo deste valor. Nenhum grupo testado apresentou eficácia antimicrobiana pelo teste de difusão em ágar, com ausência de halos de inibição. Os materiais apresentaram diferentes regularidades em imagens por MEV, com partículas de tamanhos similares e formas variáveis. Foram encontrados os mesmos elementos químicos em todos os grupos estudados. Apenas o cimento MTA apresentou radiopacidade com valor acima da recomendação mínima; nenhum dos cimentos testados apresentou eficácia antimicrobiana; os materiais apresentaram similaridade tanto na análise de superfície quanto na análise dos elementos químicos.

1.2 Capacidade seladora

O MTA, o cimento IRM e o amálgama de prata foram testados por Lee, Monsef e Torabinejad (1993), nos casos de perfuração radicular lateral de molares humanos, através de um experimento *in vitro*. Os espécimes foram imersos em azul de metileno por 48 horas e as análises realizadas com o auxílio de um microscópio óptico. Os resultados mostraram que o grupo do MTA apresentava os menores índices de infiltração marginal, sendo estatisticamente significativo quando comparados aos outros dois materiais.

A capacidade seladora de três materiais retrobturadores (amálgama, Super-EBA, e um agregado trióxido mineral) foi avaliada por Torabinejad, Watson e Pittford (1993). Trinta dentes unirradiculares foram tratados endodonticamente e obturados com guta-percha e cimento, a parte externa dessas raízes foram vedadas pela aplicação de esmalte, os 3 mm apicais foram seccionados e realizados retropreparos com 3mm de profundidade para a aplicação dos materiais testados. Todas as raízes foram expostas a uma solução aquosa corante (rodamina B fluorescente) por 24 horas, seccionadas longitudinalmente e avaliadas em um microscópio confocal. A análise estatística mostrou que o agregado trióxido mineral infiltrou significativamente menos do que o amálgama e o Super-EBA.

Para Khayat, Lee e Torabinejad (1993), as metodologias de infiltração que utilizam corantes são inadequadas, sendo os estudos de infiltração microbiana mais significantes e clinicamente relevantes. Os corantes e isótopos têm moléculas de pequeno tamanho, que podem não representar a infiltração de bactérias e seus subprodutos.

A investigação relacionada à adaptação marginal do MTA e de outros materiais retrobturadores (amálgama, Super-EBA e IRM) através do MEV, foi realizada por Torabinejad et al. (1995c). Oitenta e oito dentes unirradiculares recém extraídos foram tratados endodonticamente e obturados com guta-percha e cimento, e logo após sofrerem ressecção apical, retropreparos e retrobturações com os materiais propostos, quarenta raízes foram seccionadas longitudinalmente em duas metades, desidratadas por etanol (30, 50, 70, 90 e 100%) durante 10 minutos, para cada concentração. Cada metade foi montada em um pedaço de alumínio para o banho de ouro e exame ao MEV. A distância entre os materiais retrobturadores e as paredes dos preparos foi medida em quatro lugares. Os outros 48 dentes foram divididos em dois grupos, com retropreparos utilizando broca e ultrassom. O MTA teve melhor adaptação quando comparado com o amálgama, o Super-EBA, e o IRM, porém os métodos pelos quais as cavidades foram realizadas não influenciaram nos resultados.

Outro método para avaliação da capacidade seladora do MTA foi utilizado por Bates, Carnes e Del Rio (1996), onde a eficácia do MTA em selar longitudinalmente os terços apicais das raízes nas retrobturações foi avaliada por um sistema de filtração de fluidos. Para tal, 76 dentes unirradiculares humanos extraídos foram limpos e modelados usando a técnica de preparo *step-back*. Após a ressecção dos 3 mm apicais e dos retropreparos com ultrassom, 72 amostras foram randomicamente separadas em três grupos e retrobturadas com amálgama e verniz, Super-EBA, e MTA. A microinfiltração foi avaliada em 24 e 72 horas, e durante duas, quatro, oito e 12 semanas, usando um sistema de mensuração de filtração de fluidos. O MTA demonstrou uma excelente capacidade seladora durante as 12 semanas de imersão em fluido, comparável ao Super-EBA. A microinfiltração nesses dois grupos (MTA e Super-EBA) foi significativamente menor que no grupo do amálgama em 24 e 72 horas bem como em duas semanas. Nos períodos subsequentes, não houve diferença significativa entre os três materiais. Nesse estudo, o MTA foi superior ao amálgama e comparável ao Super-EBA na prevenção da microinfiltração.

Com o objetivo de determinar o tempo necessário para *Serratia marcescens* penetrar os 3 mm das retrobturações feitas com amálgama sem zinco, IRM, Super-EBA, e MTA, Fischer, Arens e Miller (1998) realizaram um experimento e para tal, utilizaram 56 dentes humanos unirradiculares extraídos que foram limpos e modelados com a serie .04 do instrumento rotatório (série 29). Primeiramente, os canais foram preparados pela técnica *crown-down*, os ápices cortados e retropreparados ultrassonicamente. As 48 retrocavidades tinham 3 mm de profundidade. Esses dentes foram esterilizados a vapor e as retrobturações realizadas em câmara de fluxo laminar com os materiais testados. Os quatro controles positivos foram retrobturados com guta-percha sem cimento e os quatro controles negativos foram preenchidos com cera e cobertos com duas camadas de esmalte. Os dentes foram acoplados a compartimentos plásticos pré-esterilizados com óxido de etileno e os ápices mergulhados em 12 ml de caldo vermelho fenol. Usando uma micropipeta, *S. marcescens* foi inserida nos canais de cada dente. Para checar a esterilização do aparato, raízes de dois dentes testados e uma de cada grupo controle foram preenchidas com solução salina estéril. O número de dias para a penetração do micro-organismo e o crescimento no meio foi quantificado e analisado. A maioria das amostras preenchidas com amálgama sem zinco infiltraram entre 10 a 63 dias, o IRM começou a infiltrar em 28 dias indo até 91 dias, o Super-EBA infiltrou entre 42 e 101 dias e o MTA não começou a infiltrar antes de 49 dias, sendo que ao final do estudo ainda havia 4 amostras sem sinais de infiltração. A análise estatística

dos dados indicou o MTA como o material retrobturador mais eficiente contra a infiltração pela *S. marcescens*.

Dois tipos de MTA (cinza e branco da marca ProRoot) em casos de perfuração de furca de molares humanos extraídos, utilizando um modelo de infiltração microbiana foram avaliados por Ferris e Baumgartner (2004). Quarenta molares humanos extraídos foram randomicamente divididos em dois grupos experimentais de 18 dentes, sendo que os quatro dentes restantes foram usados como controle positivo e controle negativo (sem perfurações). Utilizaram um método de infiltração com câmara dupla em anaerobiose. Uma infusão cérebro-coração com hemina e menadiona foi usada como meio de cultivo para *Fusobacterium nucleatum*. Uma das amostras do grupo do MTA cinza infiltrou em dois dias e após observação ao microscópio, constataram a presença de uma fratura vertical não visível ao olho nu previamente. Duas outras amostras do grupo do MTA cinza e três do MTA branco infiltraram em um intervalo entre 15 e 21 dias. Não houve diferença estatística significativa entre os dois materiais testados.

A pesquisa de Storm et al. (2008) foi descrita anteriormente, no tópico das propriedades físicas e químicas do MTA. Os autores atribuíram a excelente capacidade seladora do agregado trióxido mineral ao seu poder de micro expansão tardia e concluíram que a formulação cinza expandiu mais que a branca e o cimento Portland.

O MTA é um importante material de uso na Odontologia, com boas propriedades biológicas, que pode ser importante no processo de reparo periapical. Um estudo reelizado por Lisbôa et al. (2017) teve o objetivo de avaliar in vitro a profundidade de penetração de dois diferentes cimentos endodônticos nos túbulos dentinários e a infiltração bacteriana em obturações com os cimentos AH Plus e MTA Fillapex. Foram utilizados 34 pré-molares monorradiculados humanos, suas coroas removidas e suas raízes padronizadas em 16 mm, a seguir foram, então, divididos aleatoriamente em dois grupos de 15 espécimes e instrumentados com o sistema rotatório Pro Taper. Um grupo foi obturado com o cimento AH Plus (Grupo AH) e outro com MTA Fillapex (Grupo FI). Nestes grupos, avaliaram-se a infiltração coronária de bactérias para *Enterococcus Faecalis* e a profundidade de penetração nos túbulos dentinários. Para a aferição da infiltração bacteriana, usou-se o teste exato de Fisher; para a penetração intratubular, usou-se o teste-t. Como resultados do estudo, para a infiltração bacteriana, considerando o número de amostras infiltradas para AH e MTA Fillapex, houve diferença estatística significativa ($p=0,0341$). Na avaliação da penetração intratubular, a diferença entre os dois grupos de cimentos foi considerada estatisticamente significativa ($p=0,0006$). Assim, ambos os cimentos apresentaram infiltração bacteriana,

sendo que o MTA Fillapex teve pior desempenho. A capacidade de penetração nos túbulos dentinários do AH Plus foi significativamente maior que a do MTA Fillapex.

1.3 Análise do selamento endodôntico por métodos de infiltração microbiana

Tanomaru Filho (1992) avaliou a capacidade de selamento de três materiais retrobturadores diferentes: N- Rickert; CRCS e Sealer 26, sendo o Sealer 26 o que apresentou o melhor resultado. Outros autores, Lee, Monsef e Torabinejad (1993) analisaram a capacidade de selamento do Agregado Trióxido Mineral (MTA), Material Restaurador Intermediário (IRM) e amálgama em perfurações de dentes humanos extraídos. O MTA obteve menor infiltração, por corante azul de metileno, em comparação com os outros materiais testados. Concomitante, Torabinejad, Watson e Pitt Ford (1993) utilizaram o corante fluorescente rodamina B e a microscopia confocal para investigar a capacidade do selamento apical do amálgama, do Super-EBA e do MTA. Nesse estudo, as 30 amostras foram expostas ao corante por 24 horas e seccionadas longitudinalmente. Com isso, a extensão da penetração do corante pode ser verificada por meio da microscopia confocal. O MTA teve infiltração inferior em relação ao amálgama e ao Super-EBA.

Entretanto, Torabinejad et al. (1994) compararam quantitativamente a infiltração pelo corante, com e sem sangue, em retropreparos selados com amálgama, Super-EBA, IRM e MTA. Os autores observaram que não houve diferença significativa entre a presença ou ausência de sangue, mas houve diferença significativa entre os materiais testados ($p < 0,0001$). Com ou sem a presença de sangue, o MTA teve infiltração significativamente menor comparado com os outros materiais.

A utilização de oitenta e oito dentes unirradiculares recém-extraídos com o intuito de investigar a adaptação marginal do MTA foi comparada com os seguintes materiais: amálgama; Super-EBA e IRM pela análise da Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Torabinejad et al. (1995b) observaram que o MTA apresentou melhor adaptação marginal do retropreparo em relação aos demais materiais testados.

Com a investigação sobre a capacidade de selamento do MTA com o amálgama e o Super-EBA, em 76 canais unirradiculares retrobturados. A microinfiltração foi avaliada pela filtração de fluido em períodos de 24 e 72 horas, 2, 4, 8 e 12 semanas. Bates, Carnes e Del Rio

(1996), observaram que o MTA teve melhor selamento apical em relação ao amálgama e ao Super-EBA.

A infiltração de cinco materiais retrobturadores (amálgama, Fuji II, Hi Dense, Super-EBA e MTA) foi medida por Bates, Carnes e Del Rio (1996) no período de um ano, por meio do modelo transporte de fluido. Os autores observaram que nos períodos de 3, 6 e 12 meses, os dois cimentos de ionômero de vidro (Fuji II e Hi Dense) junto com o MTA, obtiveram menor infiltração comparado com o Super-EBA e amálgama; o amálgama foi o material retrobturador que permitiu maior infiltração.

Com uma outra metodologia, Haïkel et al. (1999) analisaram o selamento apical por meio de um novo método de análise quantitativa pela penetração do marcador I125 lisozima em cimentos endodônticos: Sealapex; AH Plus ou Topseal e Sealite. Foram utilizados 113 dentes com canais unirradiculares amplos e, em todos, foi utilizada a técnica de obturação compactação lateral.

Todas as amostras foram imersas em solução I125 lisozima por períodos de 1, 7, 14 e 28 dias. Posteriormente, cada amostra foi analisada por um medidor gamma, para quantificar a penetração da proteína nos canais obturados. Os autores concluíram que em relação à capacidade de selamento apical, o AH Plus (Topseal) foi o cimento endodôntico que obteve melhor comportamento em comparação com o Sealapex; e o Sealite apresentou uma infiltração aceitável até o 140 dia, com aumento da infiltração após esse período

A microinfiltração por meio da filtração de fluido dos seguintes materiais retrobturadores: amálgama, IRM, adesivo dentinário (Clearfil Liner Bond 2), Super-EBA e MTA foi analisada por Fogel e Peikoff (2001). Nesse estudo, foram utilizados 60 dentes unirradiculares humanos extraídos. Os resultados mostraram que o amálgama foi o material retrobturador que mais infiltrou em relação aos outros materiais testados. Não houve diferença significativa entre o IRM, o Clearfil Liner Bond 2, o Super-EBA e o MTA.

A adaptação marginal do MTA e do amálgama com a análise do baixo vácuo versus alto vácuo MEV foi estudada por Shipper et al. (2004b). Nesse estudo foram utilizados 20 dentes unirradiculares. As retrobturações com MTA apresentou os menores gaps. Assim, o MTA obteve uma melhor adaptação marginal em relação ao amálgama. Concomitante Valois e Costa Júnior (2004) compararam a capacidade da espessura do MTA de prevenir a infiltração apical por meio do uso do corante *Coomassie Brilliant Blue G*. Nesse estudo, foram utilizados 64 dentes que foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, onde o MTA foi obturado com espessuras de 1, 2, 3 e 4 mm. A avaliação das amostras foi obtida em intervalos de 24 horas por 60 dias. Os resultados mostraram que a espessura de 1 mm do

MTA foi menos eficaz em prevenir a infiltração apical. Assim, conclui-se que a espessura mais adequada para evitar a infiltração da retrobturação é a de 4 mm.

Xavier et al. (2005) analisaram a capacidade de selamento apical por meio da infiltração de corante e análise microscópica da adaptação marginal das retrobturações. Foram utilizados 30 dentes unirradiculares humanos extraídos retrobturados com os seguintes materiais: MTA-Angelus; Super-EBA e Vitremer. Em relação à infiltração de corante, o Vitremer foi o material que apresentou elevada microinfiltração comparado aos outros materiais. Na MEV, o MTA foi o material que apresentou melhor adaptação marginal.

A capacidade de selamento apical de dois novos cimentos experimentais com o MTA foi comparada por Gandolfi et al. (2007) pelo método de filtração de fluido. Os autores também analisaram as características estruturais desses materiais retrobturadores pela difração de RX (XRD) e espectrometria fluorescente por RX (RXF). Trinta dentes unirradiculares humanos extraídos foram utilizados e retrobturados com MTA e os cimentos experimentais: Tetrasilicate cements (TC-1 e TC-2). O método de filtração de fluido foi aferido durante um período de cinco minutos após 4, 24, 48 horas e 1, 2 e 12 semanas. Os autores concluíram que não houve diferença estatística entre os dois cimentos e o MTA quanto à infiltração. Na XRD, os cimentos experimentais apresentaram pequenas quantidades de óxido de SiO_2 e FeO_3 . Na análise da MEV, tanto os cimentos experimentais quanto o MTA apresentaram boa adaptação marginal às paredes dentinárias com poucos gaps marginais. Assim, os dois cimentos experimentais apresentaram características satisfatórias para serem utilizados como materiais retrobturadores.

Izeppe, Garcia e Nishiyama (2003) utilizaram 45 dentes com canais únicos tratados endodônticamente, usando a técnica clássica de obturação retrógrada e preparo de cavidade com brocas de aço nº 2 em baixa rotação. O Sealer 26 e o Endomethasone apresentaram melhor selamento em relação ao MTA, produzindo resultados semelhantes entre si. Outros autores como Tanomaru Filho et al. (2006) também estudaram a reparação periapical, usando diferentes materiais retrobturadores: Sealer 26; Sealapex com óxido de zinco e MTA. Os três apresentaram resultados semelhantes, o que indica que os três materiais são satisfatórios.

A adaptação marginal e a citotoxicidade de ter diferentes materiais retrobturadores: Amálgama, MTA e o cimento ósseo Palacos-R foi analisada por Badr (2010). O cimento Palacos-R obteve resultados semelhantes ao do MTA e sendo muito superior ao amálgama.

1.3.1 Infiltração microbiana

Com o objetivo de avaliar o tempo necessário para o *Staphylococcus epidermidis* invadir 3mm de espessura das retrobturações com os materiais Super-EBA, IRM e MTA, Torabinejad et al. (1995a) observaram que oito das 10 amostras retrobturadas com Super-EBA infiltrou entre 11 e 57 dias. Todas as amostras onde foi utilizada o IRM, infiltrou entre 8 e 52 dias. Oito das dez amostras retrobturadas com MTA não foi observada infiltração em 90 dias do experimento. Assim, os resultados desse estudo mostram que o MTA teve menor infiltração bacteriana em relação aos outros materiais testados. Além disso, compararam a infiltração coronária pelo marcador microbiano anaeróbio do Super-EBA após as duas técnicas de retropreparo. Chailertvanitkul et al. (1998) observaram que retrobturações nas quais os retropreparos foram realizados com brocas infiltraram em 59%, enquanto que as retrobturações cujos retropreparos foram confeccionados com pontas ultrasônicas infiltraram em 22% , após 90 dias do experimento.

Para a análise da microinfiltração desenvolvida num modelo de câmara, foram utilizadas nove espécies de bactérias anaeróbias estritas: *Fusobacterium nucleatum*; *Fusobacterium necrophorum*; *Prevotella nigrescens*; *Prevotella intermédia*; *Porphyromonas endodontalis*; *Veillonella parvula*; *Actinomyces israelii*; *Peptostreptococcus micro e*, *Peptostreptococcus anaerobius*. Segundo Bae, Baumgartner e Nakata (1998), as bactérias foram usadas e testadas para avaliação da viabilidade e detecção do turvamento ou mudança de cor do meio. Foram utilizados quatro tipos de caldo: Infusão cérebro coração with bromocresol purple (bpBHI), infusão cérebro coração (BHI), peptone-yeast extract-glucose broth with bromocresol purple (bpPYG) e Peptone-yeast extract-glucose broth (PYG). Os resultados desse estudo mostraram que, após duas semanas, o *Fusobacterium nucleatum* e o *Fusobacterium necrophorum* foram viáveis em todos os meios e obtiveram turvamento e alteração de cor após um dia de incubação. *Veillonella parvula* (bpBHI e BHI) e *Peptostreptococcus anaerobius* (bpPYG e BHI) foram viáveis em mais de duas semanas e apresentaram turvamento e mudança de cor após um ou dois dias. Os autores concluíram que o método desenvolvido foi satisfatório para a análise de bactérias anaeróbias estritas.

Em outro estudo, Fischer, Arens e Miller (1998) utilizaram 55 dentes unirradiculares humanos extraídos para avaliar a infiltração bacteriana por cepas de *Serratia marcescens* em dentes obturados com quatro materiais retrobturadores: amálgama sem zinco; IRM; Super-EBA e MTA. Os autores concluíram que o MTA foi o material que melhor promoveu o

selamento apical. Adicionalmente, compararam a capacidade do MTA e do amálgama de selar perfurações de furca em 42 molares humanos extraídos, com o método de infiltração bacteriana anaeróbica com cepas de *F. nucleatum*. No mesmo, Nakata, Bae e Baumgartner (1998) observaram que o MTA apresentou melhor comportamento, ou seja, preveniu melhor a infiltração bacteriana em relação às perfurações seladas com amálgama. Vale ressaltar que compararam a capacidade de selamento dos seguintes materiais retrobturadores: MTA; Super-EBA; resina composta TPH com adesivo dentinário ProBond e amálgama Dispersalloy com e sem adesivo dentinário ProBond, com relação à microinfiltração por cepas de *Streptococcus salivarius* em períodos de 4,8 e 12 semanas. Adamo et al, (1999) concluíram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados. Entretanto, avaliaram a capacidade de selamento do Super-EBA, IRM, amálgama e MTA com infiltração por endotoxina em 1, 2, 6 e 12 semanas.

A prevenção da infiltração microbiana em perfurações de furca de 36 molares inferiores humanos extraídos foi estudada e feita a comparação da eficácia do MTA e do cimento Portland. As amostras foram colocadas em dispositivos esterilizados nos quais a região de furca ficava em contato com o meio de cultura BHI (infusão cérebro coração). As amostras foram colocadas em contato com saliva humana misturada com o meio de cultura. Esse sistema foi incubado a 37° C e analisado diariamente, com o objetivo de observar o turvamento no BHI no período de 50 dias. De-Deus et al. (2006a) observaram que após 50 dias, 53% das amostras do grupo do MTA e 60% do grupo do cimento Portland apresentaram turvamento. Vale salientar que Maltezos et al. (2006) compararam a capacidade de selamento de três materiais retrobturadores: Resilon / Epiphany; Pro Root MTA e Super-EBA, por meio da análise de infiltração bacteriana com cepas de *Streptococcus salivarius* (*S. salivarius*). Concluíram que o Super-EBA foi o material retrobturador que obteve maior infiltração microbiana, no final das quatro semanas do experimento e não houve diferença estatística entre o Resilon / Epiphany e o Pro Root MTA. Ao mesmo tempo, investigaram se o MTA cinza em contato com sangue, saliva ou solução salina é capaz de alterar a capacidade de selamento desse material. Para tanto, foram utilizados 90 dentes unirradiculares humanos recém-extraídos. Após o retropreparo nessas amostras, o grupo 1 ao 3 foram preenchidos com MTA após a contaminação com sangue, solução salina e saliva, respectivamente. No grupo 4, não houve a contaminação do retropreparo. Foi confeccionado um dispositivo tubo / dente para que cada área da retrobturação fosse colocada em contato com o meio trypticase soy broth (TSB). As câmaras pulpares foram preenchidas com *S. epidermidis*. Montellano, Schwartz e Beeson (2006) concluíram que o MTA cinza sem contaminação infiltrou bem

menos em relação ao MTA contaminado com saliva no período de 30 dias. Não houve diferença estatística na infiltração bacteriana entre o MTA cinza contaminado, com sangue ou com solução salina, em relação às amostras não contaminadas.

Ainda nesse ano, foram analisadas a capacidade de selamento de quatro cimentos endodônticos (Pulp Canal Sealer EWT, EndoREZ, Sealapex e AH Plus) em duas diferentes espessuras. Foram utilizados 82 incisivos superiores humanos extraídos que, após a utilização da broca Gates-Glidden até o número 6, as amostras foram subdivididas e obturadas com cilindros de guta-percha de 1.5 ou 1 mm de largura. As amostras foram mantidas em dispositivo para a avaliação diária da infiltração bacteriana até o período de 12 semanas. Segundo De-Deus et al. (2006b), os resultados desse estudo mostram que os cimentos endodônticos tiveram resultados semelhantes, enquanto que, na espessura de cimento, o AH Plus obteve melhor resultado de selamento em relação aos demais cimentos.

A microinfiltração microbiana em dois cimentos: o MTA branco e o material experimental (EndoBinder®), que contém aluminato de cálcio mais aditivos, foram analisados por Jacobovitz et al. (2009). Os autores utilizaram nesse estudo, 40 incisivos humanos extraídos divididos em quatro grupos: 1- MTA branco; 2- EndoBinder®; 3 e 4 - controle positivo e negativo, respectivamente. As amostras foram inoculadas com cepas de *E. faecalis* para análise da microinfiltração bacteriana. Os resultados desse estudo mostram que, após o período de 30 dias, tanto o MTA quanto o EndoBinder® não apresentaram qualquer microinfiltração microbiana.

Em avaliação e estudos com o MTA, Tang, Torabinejad e Kettering (2002) observaram que, no período de 1, 2, 6 e 12 semanas, o MTA teve menor infiltração em relação ao IRM e ao amálgama. Já em duas e 12 semanas, o MTA infiltrou menos que o Super-EBA. Al-Hezaimi et al. (2005) compararam a capacidade de selamento do MTA cinza, MTA branco com a técnica de condensação vertical e cimento endodôntico, em dentes expostos à saliva humana. Quarenta e três dentes unirradiculares humanos extraídos foram instrumentados e obturados com MTA cinza (grupo A), MTA branco (grupo B), guta-percha e cimento Kerr Canal Sealer EWT (grupo C). As amostras foram submetidas ao modelo de infiltração por saliva. Após 42 dias, houve turvamento do meio no grupo A de 9.1%, no B de 36.4% e no C de 81.8%. Uma diferença estatisticamente significativa ocorreu entre os grupos A e C ($p < 0.001$). Os autores concluíram que o selamento do SCR com o MTA foi mais eficaz em combater a infiltração de saliva humana, em relação ao cimento endodôntico e à guta-percha condensados verticalmente.

FERREIRA, (2011) em um estudo comparativo entre retrobturações feitas com cimento ósseo Palacos-R, MTA cinza e Sealer 26, o cimento Palacos-R apresentou menor grau de infiltração marginal com *Enterococcus faecalis*, no período de 60 dias, em comparação ao MTA cinza e ao Sealer 26, respectivamente.

BADR (2010), propôs a utilização do cimento ósseo Palacos-R, o qual apresentou excelentes propriedades físico-químicas e biológicas. Diante das evidências apresentadas, se faz necessário investigar a capacidade dos materiais retrobturadores no selamento endodôntico, com o objetivo de verificar a eficácia na aplicabilidade clínica quanto à prevenção de percolação. Apesar de existirem vários estudos acerca do assunto, com metodologias diversas inclusive, pode-se verificar uma grande preocupação com este tipo de análise.

2 PROPOSIÇÃO

Objetivo Geral

O objetivo deste estudo consiste em analisar comparativamente a adaptação marginal, a infiltração microbiana e a citotoxicidade dos cimentos Palacos-R (Heraeus Kulzer) e MTA cinza (Angelus) nas retrobturações.

Objetivos Específicos

- a) Observar ao MEV a adaptação marginal do cimento MTA cinza e do cimento ósseo Palacos-R;
- b) Comparar a capacidade de selamento apical dos cimentos MTA cinza (Angelus) e Palacos-R (Heraeus Kulzer) em dentes submetidos à infiltração microbiana, pelo *Enterococcus faecalis*;
- c) Analisar a ação citotóxica do cimento MTA cinza e do cimento ósseo Palacos-R.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Material para a metodologia da atividade citotóxica

- a) Centrífuga da marca MiniSpin Eppendorf (Eppendorf, *AG, Hamburg, DE, Germany*);
- b) Cimentos de MTA na apresentação cinza da marca Angelus - indústria de produtos Odontológicos Ltda, Londrina, PR, Brasil, utilizados de acordo com as recomendações do fabricante;
- c) Corante vital MTT (brometo de 3 – [4,5 - dimetil -2- tiazolil] - 2,5- difenil-tetrazólio) (Sigma-Aldrich Co.);
- d) Cultura de fibroblasto gengival de camundongos L929 (ATCC CCL1);
- e) Espectrofotômetro tipo Elisa da marca μ Quant (Bioteck *Instruments Inc.*);
- f) Estufa de CO₂ (SL Shel Lab - *Model 2323, Sheldon Mfg. Inc. Cornelius, OR, USA*);
- g) Garrafa de cultivo celular (Corning, Sigma-Aldrich);
- h) Meio de cultivo DMEM (Sigma-Aldrich Co.);
- i) Meio de cultura DMEM (Sigma-Aldrich Co.) contendo 10% de soro fetal bovino, glutamina e antimicrobianos (Gentamicina e Nistatina ambos a 50 μ g/mL);
- j) Microscópio da marca Nikon Eclipse TS100 com câmera Nikon ELWD 0.3 (Nikon, *Minato, Tokyo, Japan*);
- k) Microtubos tipo Eppendorf;
- l) PBS (Solução salina tamponada);
- m) Placas de 96 poços (Corning, Sigma-Aldrich)
- n) Tripsina (Sigma-Aldrich Co.);
- m) Vortex multifuncional da marca Kasvi (Curitiba, PR, Brasil).

3.1.2 Material para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

- a) Cimentos de MTA cinza da marca Angelus - indústria de produtos Odontológicos Ltda, Londrina, PR, Brasil, utilizados de acordo com as recomendações do fabricante;
- b) CO₂ super seco;
- c) Oito dentes unirradiculares humanos tratados endodonticamente e retrobturados;
- d) Etanol 30, 50, 70, 90 e 100% (Merck, *Darmstadt, DE, Germany*);
- e) *Scanning Eletron Microscope* (JEOL JSM-6490LV, *Akishima, Tokyo, Japan*);
- f) *Sputter coater* (BAL-TEC SCD050, *Capovani Brothers Inc. Scotia, NY, USA*);
- g) *Stubs* de alumínio.

3.1.3 Material para avaliação da capacidade seladora

- a) Ácido Cítrico 10% (Fórmula & ação, São Paulo, SP, Brasil);
- b) Álcool etílico (Merck, *Darmstadt, DE, Germany*);
- c) Álcool isopropílico (Merck, *Darmstadt, DE, Germany*);
- d) Amostra de *E. faecalis* –ATCC29212 (*American Type Culture Collection – ATCC, Rockville, MD, EUA*);
- e) Aparelho de ultrassom (ENAC-Osada *Electric Company, Los Angeles, CA*);
- f) Termo compactador de McSpadden número 45 (Dentsply Maillefer, *Ballaigues, Suíça*);
- g) Broca Endo-Z (Dentsply Maillefer, *Ballaigues, Suíça*);
- h) Broca esférica diamantada 1016 HL (KG- Sorensen, Cotia, SP, Brasil);
- i) Broca Gates-Glidden (Dentsply Maillefer, *Ballaigues, Suíça*);
- j) Câmara de fluxo laminar VecoFlow Mod.VLF9 (VECO, Campinas, SP, Brasil);

- k) Caneta de alta rotação (KaVo do Brasil Ind. Com. Ltda, Joinville, SC, Brasil);
- l) Cola a base de cianoacrilato (Loctite Super Bonder-Henkel Ltda., São Paulo, Brasil);
- m) Condensadores de Schilder ODOUS-DE DEUS (Odous de Deus, Belo Horizonte, Brasil);
- n) Cones de guta-percha acessório MF ODOUS-DE DEUS (Odous de Deus, Belo Horizonte, Brasil);
- o) Cones de guta-percha ProTaper Universal (Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- p) Cones de papel absorvente ProTaper Universal (Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- q) Contra-ângulo de baixa rotação e peça de mão (KaVo do Brasil Ind. Com. Ltda, Joinville/SC, Brasil);
- r) Disco Flexível Diamantado Dupla Face (KG- Sorensen, Cotia, SP, Brasil);
- s) Esmaltes de unha (Colorama);
- t) Espaçadores Digitais (Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- u) Espátula número 1 (SS WHITE Duflex, RJ, Brasil);
- v) Espátula para cimento endodôntico (SS WHITE Duflex, RJ, Brasil);
- w) Esterilização do aparato através de óxido de etileno pela empresa (BIOXXI Serviços de Esterilização Ltda, Rio de Janeiro, Brasil);
- x) Frascos de penicilina (Frascolex Ind. Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil);
- y) Gaze;
- z) *Gutta-condensor 45* ((Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- aa) Limas Flexofile ((Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- ab) Limas NiTi do Sistema Rotatório ProTaper Universal (Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- ac) Meio de cultura caldo Enterococcosel (Merck, *Darmstadt, DE, Germany*);
- ad) Meio líquido TSB (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA);
- ae) Microtubos tipo Eppendorf;
- af) Motor elétrico X-Smart (Dentsply Maillefer, *Ballaigues*, Suíça);
- ag) MTA cinza (indústria de produtos Odontológicos Ltda, Londrina, PR, Brasil);

- ah) Parafilm “M”(Laboratory Film Pechiney plastic packacing, Chicago, IL, USA);
- ai) Películas radiográficas Kodak E-Speed (Kodak- Eastman Kodak Company, Rochester, USA);
- aj) Placa de vidro média (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil);
- aj) Placas de TSA (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA);
- ak) Pontas de ultrassom diamantadas 81117 e 61107-E (CVDentus, São José dos Campos, SP, Brasil);
- al) Vinte caninos superiores permanentes humanos extraídos, oriundos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio De Janeiro (FO-UERJ);
- am) Régua milimetrada (Dentsply Maillefer Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ);
- an) Resina composta fotopolimerizável da marca T.P.H (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil);
- ao) Resina epóxi (Loctite Durepóxi-Henkel Ltda., São Paulo, SP, Brasil);
- ap) Seringa descartável 10 ml (Descarpack, São Paulo, SP, Brasil);
- aq) Solução de hipoclorito de sódio a 5,25% manipulação (Fórmula & ação, São Paulo, SP, Brasil);
- ar) Solução fisiológica-cloreto de sódio a 0,9% (Arboreto, Juiz de Fora, MG, Brasil).
- as) Solução de timol a 0,5% (Fórmula & ação, São Paulo, SP, Brasil);

3.2 Métodos

3.2.1 Atividade citotóxica das preparações de MTA cinza e do Palacos-R

A citotoxicidade das preparações de MTA cinza manipulado na formulação convencional e do Palacos-R foram avaliadas *in vitro* utilizando parâmetros biológicos preconizados pela ISO 10993-5 (2009), através do contato do eluato do material em meio de cultivo celular, em cultura prévia de fibroblasto gengival de camundongos (L929). A morte celular foi confirmada através da incorporação de corante vital MTT (brometo de 3 – [4,5 - dimetil -2- tiazolil] - 2,5- difenil- tetrazólio) (ISO, 2009).

As células L929 (ATCC CCL1) foram cultivadas em meio de cultura DMEM (Sigma Chemical Co.) contendo 10% de soro fetal bovino, glutamina e antimicrobianos (Gentamicina e Nistatina, ambos a 50 µg/mL). As células foram mantidas em garrafa de cultivo celular e incubadas em estufa de CO₂, em atmosfera de 5%, com 95% de umidade relativa, a 37° C, por 24/48 h. Para a realização dos ensaios, as células foram tripsinizadas e transferidas para placas de 96 poços e mantidas nas mesmas condições de cultivo. Após a observação do crescimento celular (formação de tapetes confluentes), as monocamadas foram incubadas com 100 µL dos extratos dos cimentos diluídos em log₂ (diluições seriadas de 50%).

As preparações de MTA cinza com água destilada e do Palacos-R, foram manipuladas em microtubos tipo Eppendorf no Vortex multifuncional da marca Kasvi e centrifugados 10.000 X g por 2 minutos em centrífuga da marca MiniSpin eppendorf. Os sobrenadantes excedentes (água ou isopropanol) foram removidos com auxílio de micropipetas. Após a reação de agregação (duas horas), o equivalente a 250 mg de cimento agregado foram adicionados 500 µL de meio de cultivo DMEM para a extração imediata dos componentes citotóxicos. O extrato foi removido após período de 1 h e colocado sobre as células L929. Após 24 h, o padrão de morte (em percentual) foi observado através do teste de viabilidade de MTT. Os padrões de morte celular também foram obtidos por microscopia óptica (microscópio da marca Nikon Eclipse TS100 com câmera Nikon ELWD 0.3 acoplada para a captura das imagens).

A leitura da viabilidade celular foi realizada após a incubação das células com MTT (Sigma Chemical Co.). O MTT foi diluído a 1 mg/mL em meio de cultura de células DMEM completo e 50 µL foram dispensados em cada poço sendo a placa de cultura de células

incubada por 1h a 37° C nas mesmas condições de crescimento celular. A seguir, os poços foram lavados três vezes com solução salina tamponada estéril (PBS, 0.01M pH 7.2). O composto convertido em formazana pelas células viáveis foi eluído com 100 µL de isopropanol (Sigma Chemical Co.) e a leitura realizada em espectrofotômetro tipo Elisa da marca µQuant (Biotek Instruments Inc.), em comprimento de onda $\lambda=570$ nm. As células cultivadas sem qualquer produto citotóxico foram utilizadas como controle de crescimento (100% de viabilidade). O cálculo de percentual de morte celular foi obtido através da determinação da viabilidade total das monocamadas celulares, com base na norma da ISO onde se considera a margem de até 30% de morte celular como citotóxico (ISO, 2009).

3.2.2 Metodologia do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

A adaptação marginal do MTA cinza, como material retrobturador, foi analisada e comparada ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), seguindo a metodologia proposta nas pesquisas de Bidar et al. (2007) e Torabinejad et al. (1995c). Oito dentes unirradiculares foram tratados endodonticamente, retrobturados conforme descrito a seguir, no item 3.2.6, e divididos em quatro grupos, da seguinte forma: Grupo 1: MTA cinza + água destilada (quatro dentes); Grupo 2: Palacos-R (quatro dentes). As amostras foram desidratadas com etanol 30, 50, 70, 90 e 100%, por 10 minutos em cada concentração, submetidas ao ponto crítico para a secagem (CO₂ super seco), montadas em *stubs* de alumínio, e metalizadas em ouro (BAL-TEC SCD050 - *sputter coater*) para avaliação ao MEV (JEOL JSM-6490LV - *Scanning Eletron Microscope*) conforme as figuras 9,10,11,12 e 13. As imagens foram obtidas por observador calibrado, sendo posteriormente analisadas e discutidas pelos componentes da pesquisa, acerca da adaptação e das superfícies dos cimentos após a agregação.

3.2.3 Metodologia da capacidade seladora

O presente estudo *ex vivo* foi realizado para testar a infiltração de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) pelo sistema de canais radiculares em dentes unirradiculares humanos, com os canais obturados pela técnica híbrida de Tagger e retrobturados com MTA

cinza, manipulados conforme o fabricante (uma medida do pó para uma gota de água destilada), seguindo metodologia proposta por Fischer, Arens e Miller (1998) e por Parirokh et al. (2009). Após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto/HUPE – RJ, com a identificação (2931-CEP/HUPE-CAAE: 0080.0.228.000-11) foram selecionados 48 caninos superiores permanentes humanos extraídos, oriundos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual do Rio De Janeiro (FO-UERJ), e armazenados em solução de timol a 0,5% no Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Após a lavagem em água corrente por uma hora e a colocação das amostras sobre gaze, foram realizadas radiografias periapicais, tanto no sentido vestibulo-lingual quanto no mésio-distal, para verificar a existência de apenas um canal radicular, ausência de calcificações e de reabsorções. Os 48 dentes selecionados foram acessados com caneta de alta rotação (KAVO- 605N), brocas esféricas diamantadas número 1016L (KG-Sorensen) e Endo Z (Maillefer), e instrumentados com o sistema rotatório ProTaper Universal (Maillefer), com a utilização do motor elétrico X-Smart (Maillefer). Com a intenção de padronizar os diâmetros dos preparos, a sequência de instrumentação das amostras foi a seguinte:

- a) Irrigação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 5,25%;
- b) Cateterismo e obtenção do comprimento de trabalho (CT) 1 mm aquém do ápice radicular com lima Flexofile #15;
- c) Instrumentação com lima Tipo K #10 na patência;
- d) Instrumentação com lima Flexofile #15 e #20 no CT;
- e) Utilização da broca Gates-Glidden número 4 (GG#4) na entrada do canal radicular;
- f) Instrumentação com lima S1 do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular, 7mm aquém do CT;
- g) Instrumentação com lima SX do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular nos terços cervical e médio;
- h) Instrumentação com lima S1 do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular, no CT;

- i) Instrumentação com lima S2 do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular no CT;
- j) Instrumentação com lima F1 do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular no CT;
- k) Instrumentação com lima F2 do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular no CT;
- l) Instrumentação com lima F3 do sistema ProTaper Universal (Maillefer), sendo realizado o movimento de varredura nas paredes do canal radicular no CT;
- m) Irrigação final com 10 ml de ácido cítrico por 30 segundos seguida de 10 ml de solução de NaOCl a 5,25% e 10 ml de soro fisiológico.

Em todas as etapas, durante a utilização das limas do sistema ProTaper Universal (Maillefer), a velocidade utilizada foi de 300 rpm e torque de 2 N. No item g, a velocidade foi de 300 rpm e torque de 4 N. Entre cada troca de instrumento, foi realizada a irrigação com 2 ml de solução de NaOCl a 5,25%, com aspiração e retomada da patência com lima Tipo K #10.

Os sistemas de canais radiculares foram secos com cones de papel absorventes calibrados e obturados pela técnica híbrida de *Tagger*, com cones de guta-percha padronizados ProTaper Universal F3, cones de guta-percha acessórios MF ODOUS, cimento endodôntico obturador AH Plus (Dentsply) e termocompactador de McSpadden # 45. As coroas dentárias foram seccionadas na junção amelocementária com auxílio do disco flexível diamantado dupla face (KG-Sorensen), e os 3mm apicais foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo das raízes, de forma que o remanescente radicular de cada amostra tivesse 8 mm de comprimento. O retropreparo foi realizado com pontas ultrassônicas diamantadas CVD DENTUS 6.1107-E, com cavidades de 4mm, sendo que foi utilizada uma ponta para cada grupo de amostras, com baixa potência e irrigação abundante. Essa etapa foi realizada com auxílio do aparelho de ultrassom ENAC e microscópio cirúrgico da marca DF Vasconcelos, com magnificação de 12,5X. As amostras foram divididas aleatoriamente em dois grupos da seguinte maneira: Grupo 1 - canais retrobturados com MTA e água destilada (10 dentes), Grupo 2 - canais retrobturados com Palacos-R (10 dentes), Grupo 3 - controle

positivo (10 dentes) e Grupo 4 - controle negativo (10 dentes). As retrobturações foram confeccionadas com as formulações de MTA cinza manipuladas convencionalmente (com uma gota de água destilada estéril). Os controles consistiram de 10 dentes preparados com os canais vazios e sem retrobturações (controles positivos para infiltração bacteriana) e 10 dentes com os canais obturados em toda a sua extensão, as regiões cervicais e apicais seladas com resina composta fotopolimerizável da marca T.P.H (DENTSPLY) e com duas camadas de cola a base de cianoacrilato (Super Bonder) e esmalte envolvendo totalmente as áreas externas (controles negativos para infiltração bacteriana). Os espécimes foram montados em microtubos tipo Eppendorf cujos fundos foram cortados com a cervical voltada para o interior do microtubo e selada externamente com cola a base de cianoacrilato (Super Bonder) e resina Durepoxi. Após a reação de endurecimento, as superfícies cementárias foram impermeabilizadas com duas camadas de cola a base de cianoacrilato (Super Bonder) e duas camadas de esmalte para unha, ficando apenas a região das retrobturações expostas. O aparato foi então esterilizado através de óxido de etileno pela empresa (BIOXXI Serviços de Esterilização LTDA., Rio de Janeiro, Brasil), juntamente com 40 frascos de penicilina e suas respectivas tampas. O meio de cultura caldo Enterococcosel (Merck, Darmstadt, DE, Germany) foi inserido nos frascos esterilizados até que os ápices das raízes ficassem totalmente submersos no meio. Os *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) foram mantidos sob congelamento na bacterioteca da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da UERJ e cultivados em placas de TSA, sendo transferidos para meio líquido TSB para a obtenção da suspensão de trabalho: 0.5 da escala nefelométrica de McFarland, o que corresponde a aproximadamente 5×10^8 Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL). A suspensão bacteriana foi inserida nos microtubos em contato com a porção cervical das raízes em meio TSB. A montagem foi realizada em câmara de fluxo laminar (figura 2) (VECO, Campinas SP) e para um melhor vedamento dos frascos foi utilizado o Parafilm "M" (Laboratory Film Pechiney plastic packaging, Chicago, IL, 60631). Os aparatos prontos foram mantidos em estufa a 37° C (figura 5) durante todo o período experimental. A cada semana o meio TSB e o Parafilm "M" foram trocados em câmara de fluxo laminar (figura 3 e 4) para manutenção da viabilidade dos micro-organismos. A análise da infiltração foi realizada após a introdução da suspensão bacteriana na região coronária do aparato e pela passagem dos micro-organismos através das retrobturações. As amostras foram avaliadas pela modificação da coloração dos meios de cultura (figura 1) (presença de crescimento bacteriano) ou não (ausência de crescimento bacteriano). Os resultados foram anotados todas as vezes que ocorreu a turvação do meio.

Figura 1 – Avaliação dos dentes infiltrados e não infiltrados



Fonte: O autor, 2017.

Figura 2 - Suspensão bacteriana sendo colocada no Eppendorf



Fonte: O autor, 2017.

Figura 3 - Suspensão bacteriana já colocada no Eppendorf



Fonte: O autor, 2017.

Figura 4 – Câmara de fluxo laminar preparada para pesquisa



Fonte: O autor, 2017.

Figura 5 – Amostra sendo armazenada na estufa a 37°C



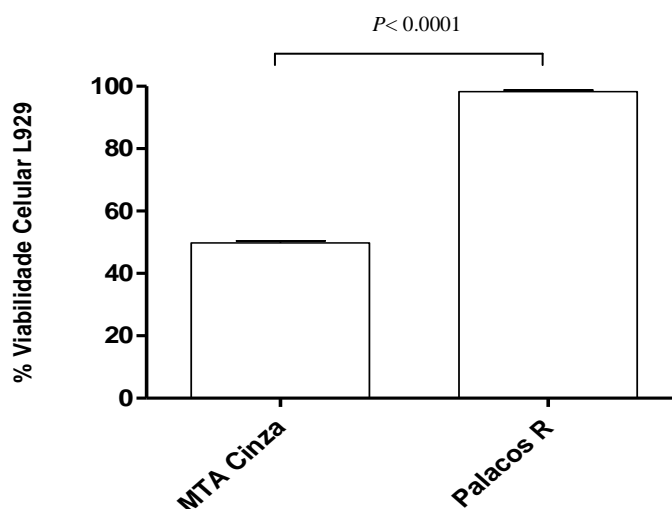
Fonte: O autor, 2017.

4 RESULTADOS

4.1 Citotoxicidade para células L929

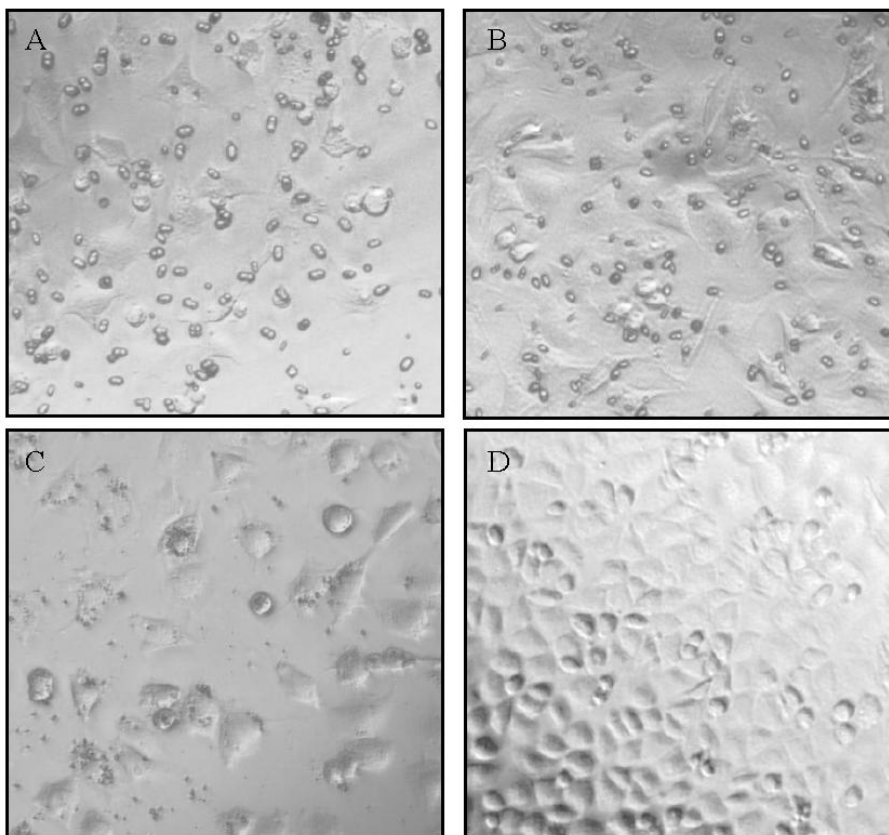
O ensaio de citotoxicidade para células L929 (Gráfico 1 e Figura 6), baseado na ISO 10993-5, utilizando o MTA e o Palacos R, mostrou que os eluatos de ambas as preparações não foram citotóxicas (não ocorreu redução acima de 30% da viabilidade celular pelo teste de MTT, onde os valores de citotoxicidade para o MTA foi de 2.3% e do Palacos R de 1.5%). Entretanto, para observação de citotoxicidade entre as preparações, fizemos o eluato 4X concentrado, ou seja, dois corpos de prova em 500 μ L (ao invés de um corpo de prova em 1000 μ L, conforme recomendado pela ISO) de meio DMEM com 10% de soro fetal bovino. Quando os materiais foram concentrados, o MTA passou a exibir atividade citotóxica, em percentuais de viabilidade das células L929 de $49.78\% \pm 0.7015$, enquanto as preparações de Palacos R (% de viabilidade de 98.30 ± 0.4619) mantiveram-se não citotóxicas para células L929, mesmo quando a eluição foi feita em condições 4X àquela estabelecida pela ISO (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Percentuais de viabilidade de células L929 submetidas a concentrações de 4X a eluição convencional estabelecida pela ISO durante 72 horas de eluição.



Fonte: O autor.

Figura 6 - Atividade citotóxica de extratos de MTA formulação cinza sobre células L929



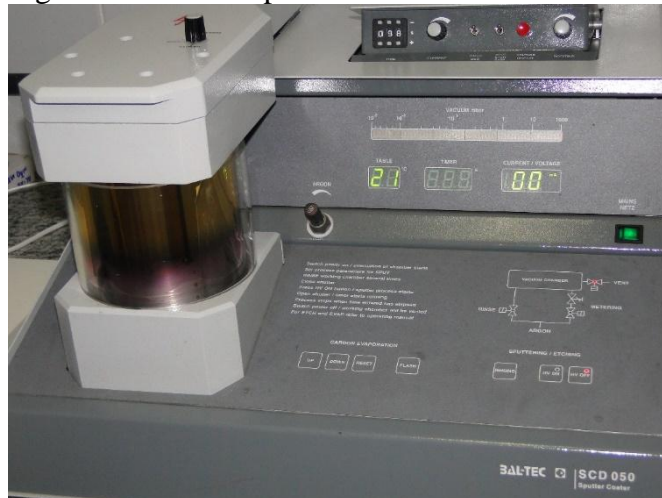
Legenda: Atividade citotóxica de MTA manipulado com água (A), Atividade citotóxica do cimento Palacos'R (B); Atividade citotóxica do MTA com clorexidina a 0,0001mg/mL (C); controle negativo (D).

Fonte: O autor, 2017.

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise da adaptação marginal das retrobturações realizadas com MTA cinza (Figuras 14, 15, 16, 17 e 18) da marca Angelus, manipuladas de acordo com as instruções do fabricante, foi realizada ao MEV (JEOL JSM-6490LV - *Scanning Eletron Microscope*)(figura 7 e 8) e mostrou a ocorrência de maiores espaços de percolação entre os agregados e as superfícies dentinárias quando comparados com o cimento Palacos-R. Foi possível observar também que nas retrobturações com MTA cinza, os traços de fratura presentes nas superfícies dentinárias se propagaram para o interior das retrobturações. O aspecto superficial das amostras demonstrou maior granulosidade do MTA do que amostras do cimento Palacos-R.

Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura



Legenda: Aparelho de microscopia eletrônica de varredura
Fonte: O autor, 2017.

Figura 8 - Microscopia eletrônica de varredura



Legenda: Amostras desidratadas colocadas no stub
Fonte: O autor, 2017.

Figura 9 - Microscopia eletrônica de varredura



Legenda: Amostras sendo carregadas pela pinça
Fonte: O autor, 2017.

Figura 10 - Microscopia eletrônica de varredura



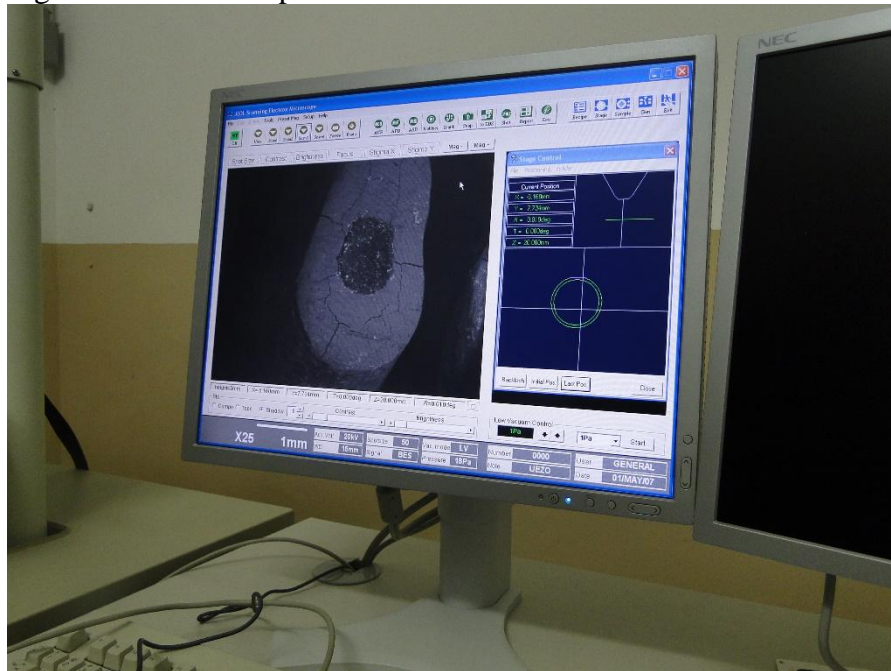
Legenda: Amostras preparada para o banho de ouro
Fonte: O autor, 2017.

Figura 11 - Microscopia eletrônica de varredura



Legenda: Amostras dentro do M.E.V. para visualização
Fonte: O autor, 2017.

Figura 12 - Microscopia eletrônica de varredura



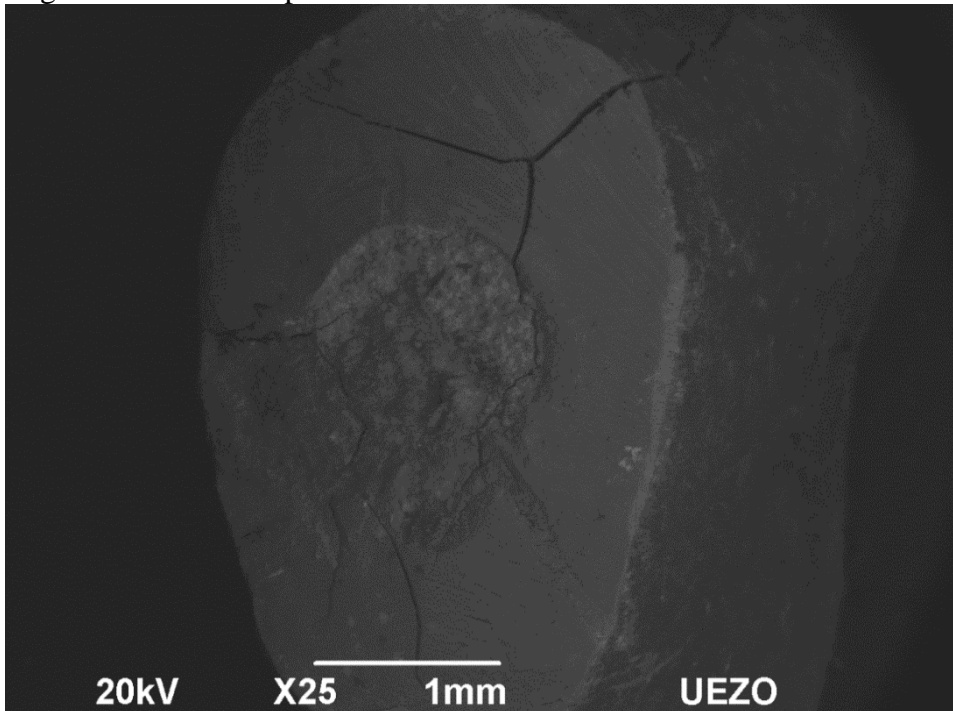
Legenda: Visualização das amostras no computador
Fonte: O autor, 2017.

Figura 13 - Microscopia eletrônica de varredura



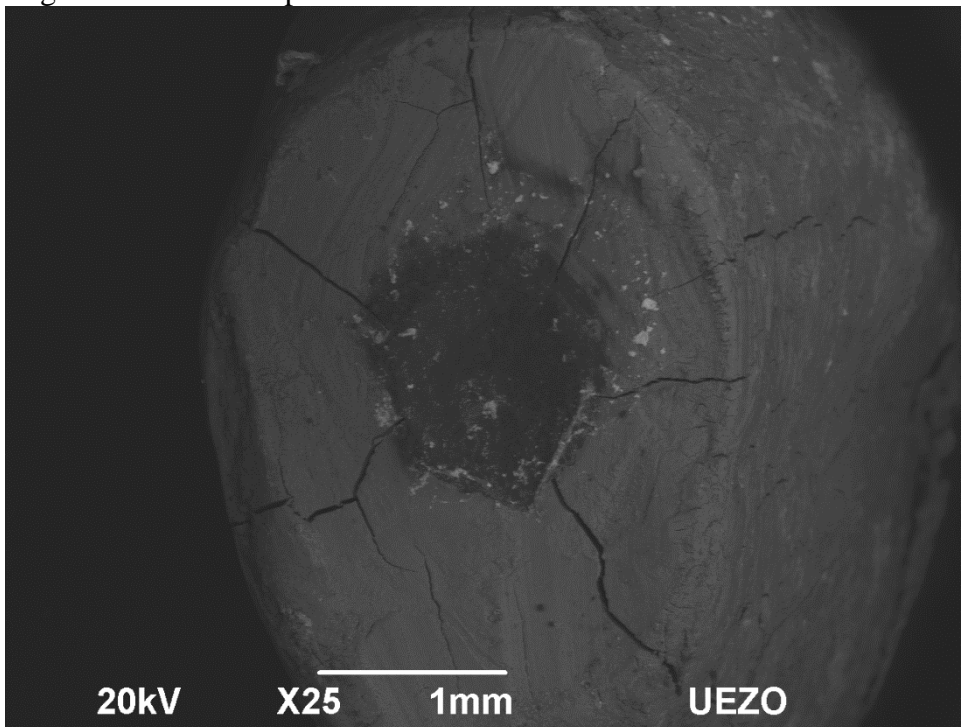
Legenda: Stub com as amostras com banho de ouro
Fonte: O autor, 2017.

Figura 14 - Microscopia eletrônica de varredura



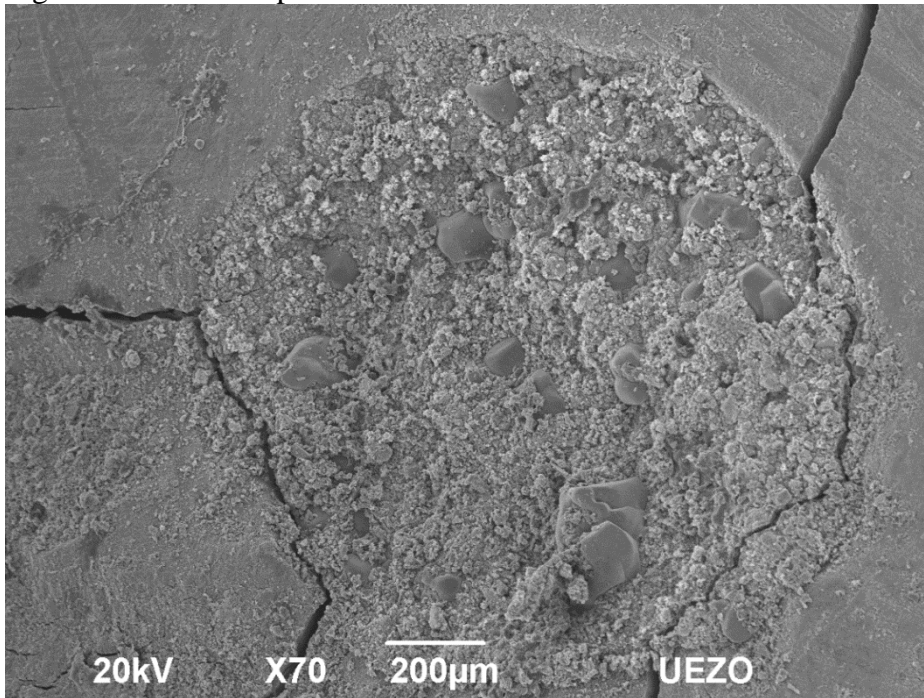
Legenda: Retropreparos obturados com MTA branco manipulados com água
Fonte: O autor, 2017.

Figura 15 - Microscopia eletrônica de varredura



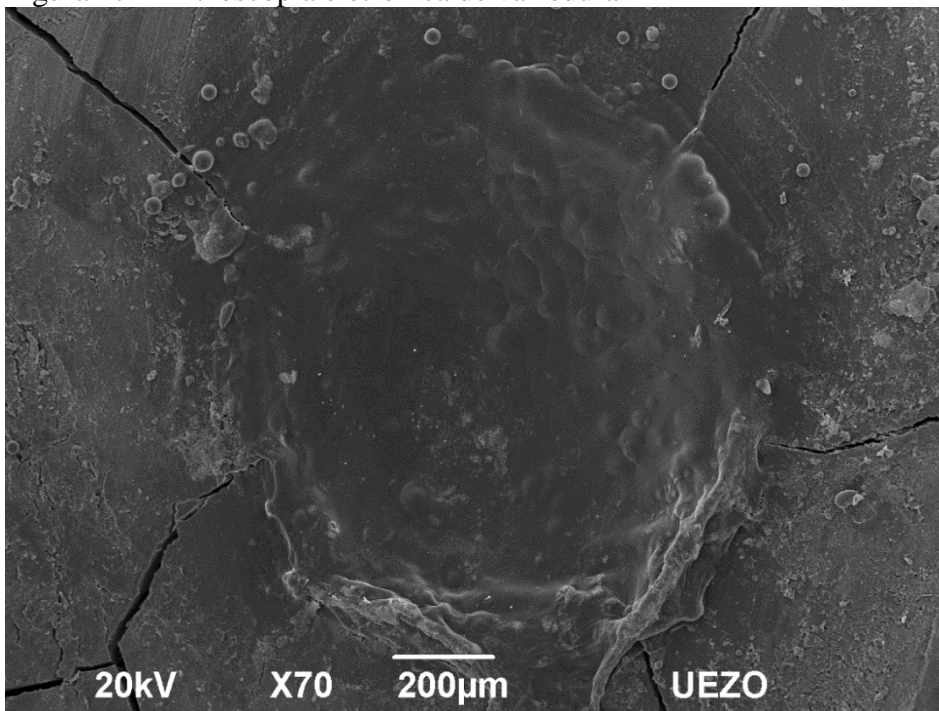
Legenda: Retropreparos obturados com cimento Palacos'R
Fonte: O autor, 2017.

Figura 16 - Microscopia eletrônica de varredura



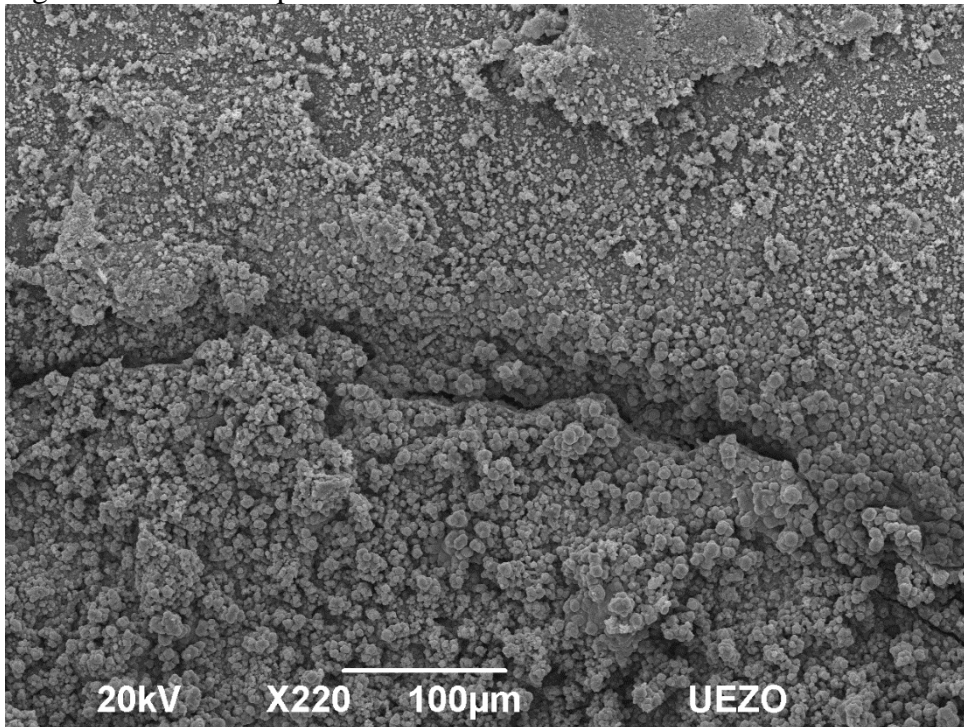
Legenda: Retropreparos obturados com cimento MTA cinza manipulado com água
Fonte: O autor, 2017.

Figura 17 - Microscopia eletrônica de varredura



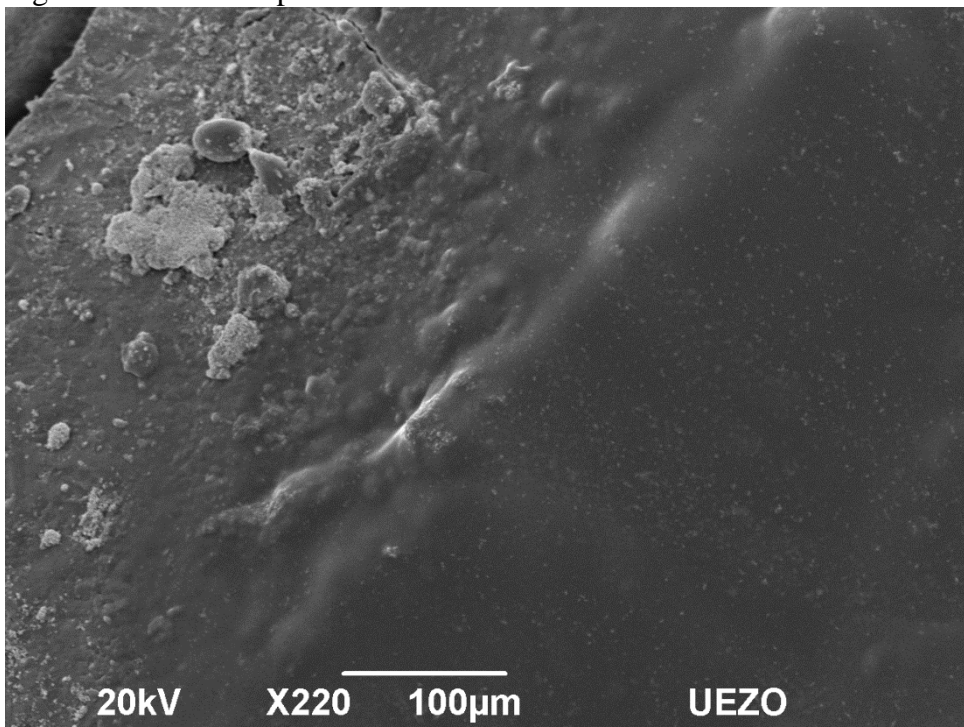
Legenda: Retropreparos obturados com cimento Palacos'R
Fonte: O autor, 2017.

Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura



Legenda: Retropreparos obturados com cimento MTA cinza manipulado com água
Fonte: O autor, 2017.

Figura 19 - Microscopia eletrônica de varredura



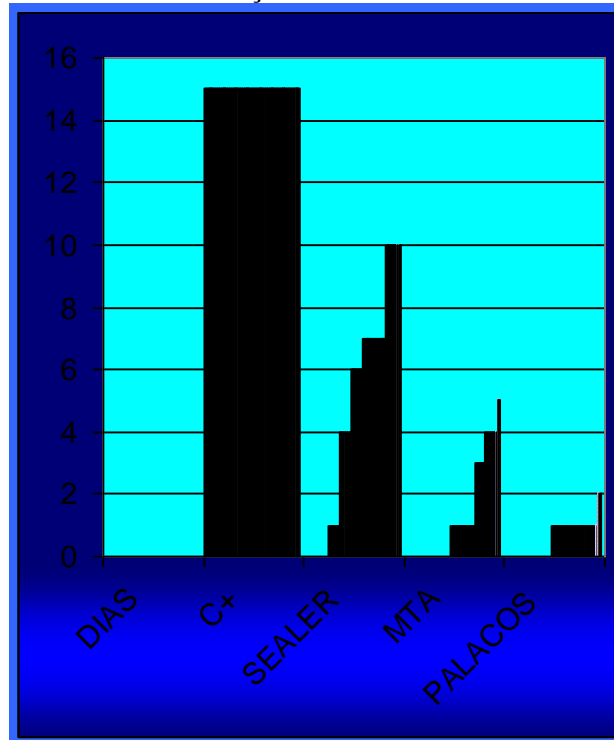
Legenda: Retropreparos obturados com cimento Palacos'R
Fonte: O autor, 2017.

4.3 Capacidade seladora através de testes de infiltração

Os experimentos de infiltração microbiana com *E. faecalis* mostraram que após sessenta dias os dentes completamente selados (controle negativo da infiltração) não permitiram o turvamento do caldo *Enterococcosel*, enquanto as amostras do grupo controle positivo permitiram a passagem dos micro-organismos após 24 horas do início dos experimentos, validando os ensaios de infiltração.

Quanto à comparação com o cimento retrobturador mais utilizado, o MTA e o Palacos-R, em dentes obturados pela técnica híbrida de Tagger, utilizando o AH-Plus, o Palacos-R foi o que apresentou a menor media e mediana de infiltração microbiana por *E. faecalis* em período de 60 dias de investigação. As primeiras infiltrações para ambos os dentes retrobturados ocorreram no vigésimo nono dia de experimento. Ao final do período de acompanhamento, o MTA permitiu a infiltração de 5 dentes, enquanto o Palacos R permitiu a infiltração de dois dentes. Apesar de o Palacos ter deixado infiltrar menos ($n=2$) da metade dos dentes infiltrados com MTA ($n=5$), as análises estatísticas do número de infiltrações totais pelo teste exato de Fisher ($P= 0.3898$) e a análise da infiltração ao longo do tempo pelo teste de Long rank/Mantel Cox, mostrou que o padrão de infiltração ao longo do tempo também não foi significativo entre os dois cimentos testados. No caso em questão um terceiro grupo de dentes foi retrobturado com o AH-plus (mesmo cimento utilizado na obturação dos condutos). Todos os dentes retrobturados com AH-Plus permitiram a infiltração bacteriana após 50 dias de curso do experimento (Quadro 1). Apesar de ter ocorrido diferenças estatísticas entre o AH-Plus e o Palacos-R, tanto pelo teste exato de Fisher ($P= 0.0078$) quanto ao longo do tempo pelo teste de Mantel-Cox ($P= 0.0142$), quando o processo de infiltração total foi comparado pelo teste de Fisher entre o AH-Plus e o MTA, não foi observada diferença estatística ($P=0.1431$) embora as curvas de infiltração ao longo do tempo terem também sido estatisticamente significativas entre o MTA e o AH-Plus pelo teste de Mantel-Cox ($P= 0.0455$).

Gráfico 2 - Comparação do grupo controle + com os demais cimentos em relação com os dias



Quadro 1 - Comparação dos cimentos com os dias da infiltração

Dias \ Cimentos	16	22	29	36	44	50	58
MTA			1		2	1	1
PALACOS-R			1				1

5 DISCUSSÃO

A busca de um biomaterial retrobturador que não interfira e até contribua no processo de reparo dos tecidos perirradiculares, vem sendo alvo de muitos estudos. Os aspectos relacionados à pesquisa de materiais que aliem biocompatibilidade e atividades que impeçam o estabelecimento de micro-organismos em sítios estéreis ou previamente contaminados fizeram com que autores como Torabinejad et al. (1995e), estabelecessem características para um material retrobturador ideal, devendo este produzir um completo selamento entre o sistema de canais radiculares e os tecidos adjacentes, não ser tóxico, não ser carcinogênico, nem genotóxico, ser bem tolerado pelos tecidos perirradiculares, não ser reabsorvível, ser estável dimensionalmente, de fácil manipulação, radiopaco e ainda possuir atividade bactericida ou bacteriostática. Enfatizaram ainda que a presença de umidade oriunda dos tecidos conjuntivos adjacentes, não deveria interferir com as propriedades do material. Nesse contexto um cimento ortopédico utilizado para fixação de implantes femorais e para a fixação de fraturas cominutivas, além da sua utilização em artroplastia, parece ser uma alternativa interessante em investigações sobre novos materiais passíveis de serem utilizados retrobturações.

O objetivo desse estudo foi o de comparar o cimento ortopédico Palacos R (proposto como cimento retrobturador) com o cimento retrobturador MTA. As comparações se basearam em propriedades citotóxicas dos cimentos, e no selamento de retropreparos realizados em dentes que foram posteriormente submetidos à análise por microscopia eletrônica de varredura e à infiltração com cepas de *E. faecalis* durante o período de 60 dias.

O MTA foi desenvolvido em 1993 na Universidade de Loma Linda (CA-EUA) com o objetivo de promover o selamento entre comunicações do SCR e a superfície externa do elemento dentário (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993). Este material tem sido indicado como de primeira escolha em retrobturações por apresentar excelentes propriedades biológicas e capacidade de selamento, comprovado em inúmeros estudos na literatura (BATES; CARNES; DEL RIO, 1996; FISCHER; ARENS; MILLER, 1998; FOGEL; PEIKOFF, 2001; LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993; NAKATA; BAE; BAUMGARTNER, 1998; SHIPPER et al., 2004a; TANG; TORABINEJAD; KETTERING, 2002; TORABINEJAD et al., 1994; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993; VALOIS; COSTA JÚNIOR, 2004; WU; KONTAKIOTIS; WESSELINK, 1998).

Em uma ampla revisão de literatura, de novembro de 1993 até setembro de 2009, Parirokh e Torabinejad (2010a) reforçaram que o pó do MTA contém finas partículas hidrofílicas que endurecem em presença de água e que as características dessa mistura podem ser influenciadas pela proporção pó e líquido, método de manipulação, pressão usada na condensação, umidade do meio, tipo de MTA, tipo de armazenamento, pH do meio, tipo de veículo, tempo de manipulação, espessura do material, e temperatura. Alguns desses fatores não podem ser controlados facilmente, portanto, diferentes resultados podem ser obtidos durante um estudo. Muitos trabalhos foram realizados para melhorar as propriedades físicas, o efeito antimicrobiano e a consistência de manipulação pela associação de outros veículos ou outras substâncias ao pó do MTA (AKBARI et al., 2013; HERNANDEZ et al., 2005; HOLT et al., 2007; HSIEH et al., 2009; JI et al., 2011; STOWE et al., 2004). Quando ocorre aumento da atividade antimicrobiana de um material, corre-se o risco de aumentar também a sua citotoxicidade, em algumas situações por falta de seletividade celular, onde o agente antimicrobiano incorporado poderia ser capaz gerar danos aos tecidos.

Os estudos empregando o MTA, visando a melhoria da propriedade antimicrobiana, iniciaram-se com a utilização de soluções de clorexidina a 0,12% por Stowe et al. (2004) ou a 2% (HOLT et al., 2007), e os resultados mostraram que a substituição da água destilada pela clorexidina promoveu ação sinérgica, aumentando o efeito antimicrobiano. Entretanto, a pesquisa proposta por Hernandez et al. (2005) mostrou que a associação da clorexidina a 0,12% ao MTA branco em comparação com a formulação convencional, induziu a morte celular dos macrófagos e fibroblastos, demonstrando um aumento da citotoxicidade. Mais recentemente foi observado por Ji et al. (2011) que a associação da solução de gluconato lactato de cálcio ao MTA branco mostrou maior atividade antimicrobiana do que a formulação original apenas após os primeiros cinco e quinze minutos. Após 60 minutos não foi observada diferença entre as formulações. A atividade antimicrobiana foi avaliada *in vitro* com tubos de difusão, contendo suspensões bacterianas de *S. mutans*. A citotoxicidade foi avaliada pelo teste do MTT, utilizando células osteoblásticas de camundongos (MC3T3-E1) e revelou maior viabilidade celular nas manipulações com o gluconato lactato de cálcio.

Em relação à capacidade de selamento dos materiais retrobturadores, o MTA foi amplamente pesquisado, apresentando melhor adaptação marginal na região do retropreparo em comparação com outros materiais testados (GANDOLFI et al., 2007; SHIPPER et al., 2004b; TORABINEJAD et al., 1995b; XAVIER et al., 2005).

De acordo com o fabricante o Palacos-R é um material composto pela mistura de duas substâncias: um polímero (pó) e um monômero (líquido) que sofre reação química por

processo de polimerização através do polimetilmetacrilato (PMMA). Os cimentos ósseos são fornecidos geralmente como um sistema de dois componentes, sendo 40g de polimetilmetacrilato em pó e 20ml de monômero líquido. O pó consiste principalmente em partículas de forma granulada com um diâmetro típico variando entre 1-125 microns, podendo apresentar pesos moleculares na faixa de 60.000 a 1.000.000 g/mol, com densidade de 1,18g/cm³, temperatura de fusão cristalina (T_m) igual a 160°C e temperatura de transição vítrea (T_g) igual a 105°C, sendo um polímero predominantemente amorfo. Estas partículas contêm além do homopolímero PMMA e/ou copolímeros do metilmetacrilato, um dos três ativadores do processo da polimerização, o peróxido de benzoíla (BPO) (chamado iniciador). Contêm ainda, o dióxido de zircônio (ZrO₂), ou sulfato de bário (BaSO₄), para fornecer a radiopacidade.

O líquido, com densidade 1,18 g/cm³, e como o segundo componente, contém principalmente o monômero MMA, mas também o segundo ativador do processo de polimerização, N, N-Dimetil p-toluidino (DMPT) (chamado acelerador), e a hidroquinona ou o ácido ascórbico, como um estabilizador para impedir a auto-cura do monômero no líquido durante o armazenamento.

Sua polimerização ocorre quando adicionamos o polímero ao monômero, os componentes são misturados e o processo de polimerização é então iniciado ocorrendo a auto-cura. Em temperatura ambiente (23 ± 1°C), a polimerização do monômero somente pode ser iniciada na presença de radicais livres. Radicais são átomos ou grupos de átomos com pelo menos um elétron desemparelhado, considerados altamente reativos, são normalmente destruídos rapidamente, por uma recombinação ou pela quebra até a criação de outro radical e uma molécula estável. Estes radicais são produzidos durante a reação do iniciador BPO, que se encontra no pó e do acelerador DMPT, presente no líquido. Por esta razão, este tipo especial de polimerização é denominado “polimerização do radical livre”. O processo transforma o líquido espesso inicialmente em um material deformável macio e finalmente em um cimento, endurecendo-se rapidamente com um aumento associado na temperatura. É crítico que o processo da polimerização seja reproduzido assim que o cirurgião possa aplicar o cimento corretamente. O processo de polimerização é uma reação exotérmica, que libera uma grande quantidade de calor. Este calor gerado faz com que temperaturas da ordem de 90°C sejam atingidas dentro do organismo. Estas temperaturas são prejudiciais às células em contato com o cimento, pois podem acarretar a necrose celular. Entretanto, o cimento vem sendo utilizado em procedimentos ortopédicos com sucesso por mais de 30 anos; a geração do calor não aparenta causar efeito danoso ao hospedeiro (HERAEUS KULZER).

Na realização dos testes, optou-se pela utilização de caninos superiores permanentes por serem dentes unirradulares e verificou-se a presença de um único canal em cada dente utilizado. Para tal, foram realizadas as tomadas radiográficas das amostras nos sentidos vestibulo-lingual e méso-distal. As coroas foram seccionadas na junção amelocementária, para obter-se uma padronização do comprimento das amostras.

A instrumentação foi realizada pelo sistema ProTaper Universal, que apresenta grande eficiência com limas de níquel-titânio de elevada flexibilidade, causando menor transporte do canal radicular durante a etapa de instrumentação.

Em relação à obturação do sistema de canais radiculares, foi escolhida a técnica Híbrida de Tagger, por apresentar maior capacidade de selamento que a condensação lateral (TAGGER, 1984). Adicionalmente, neste estudo foi utilizado o cimento endodôntico AH Plus, que é um cimento composto por resina epóxica, apresentando boa capacidade de selamento apical e satisfatória atividade antibacteriana. O estudo de Saleh et al. (2004), demonstrou que as obturações dos canais radiculares com maior eficácia em eliminar *E. faecalis* foram as que utilizaram o AH Plus e o cimento de Grossman como cimentos endodônticos. Nos estudos de Haïkel et al. (1999), com radioisótopos e De-Deus et al. (2006b), com infiltração microbiana, o AH Plus obteve melhor capacidade de selamento em relação aos demais cimentos testados nos respectivos estudos.

Nesse estudo, o retropreparo foi realizado com pontas ultrasônicas, tendo as cavidades retrógradas profundidades de 4 milímetros. De acordo com Chailertvanitkul et al. (1998), os retropreparos realizados com brocas obtiveram maior infiltração microbiana em relação aos retropreparos realizados com pontas ultrasônicas. Segundo Valois e Costa Junior (2004), a profundidade mais adequada para prevenir a infiltração da retrobturação é de 4mm. Assim, todos os aspectos relacionados ao preparo foram seguidos de acordo com os aspectos que foram considerados de maior favorecimento ao selamento para as análises que foram realizadas na comparação entre os cimentos utilizados nessa investigação.

Quanto à citotoxicidade dos materiais, o estudo de Torabinejad et al. (1995b) mostrou que o MTA foi menos citotóxico do que o IRM ou o Super-EBA. Pesquisa utilizando cães como modelo animal mostrou que o MTA induziu menor reação inflamatória perirradicular e maior formação de cápsula do que o amálgama de prata. Somado a isso, foi observada a deposição de cimento com maior frequência na superfície do MTA (TORABINEJAD et al., 1995d). A literatura vem relatando que o MTA continua sendo o material de escolha para as retrobturações, porém muitos estudos continuam sendo realizados, visando melhorar as suas propriedades, consistência de manipulação e tempo de presa (HSIEH et al., 2009;

PARIROKH; TORABINEJAD, 2010a, 2010b; TORABINEJAD; PARIROKH, 2010; YAMAMOTO et al., 2012). Seu tempo de presa pode chegar a 14 minutos, entretanto aquecendo em 1 grau Celsius, ele endurece em 1 minuto (CHAN; AHMED; JOHNSON, 1996 apud BARROS, 2001). Por essa razão a sua inserção na cavidade retropreparada foi realizada com ultrassom gerando aquecimento, o que permitiu a tomada de presa imediatamente, sendo muito importante durante o procedimento cirúrgico, para que não ocorra percolação após o reposicionamento do retalho. A sua citotoxicidade foi avaliada previamente sobre fibroblastos, onde obteve resultados semelhantes ao MTA e apresentou menos citotoxicidade em relação ao amálgama como retrobturação (BADR, 2010). De fato, seguindo os padrões da ISO, as preparações de MTA e Palacos-R não apresentaram efeito citotóxico sobre células L929, o que, para as análises de citotoxicidade deste estudo nos induziu à realização de experimentos com concentrações 4X concentradas, onde encontramos perfis de citotoxicidade, especialmente para o MTA. Além disso, devido ao fato de ser resinoso, e conter metilmetacrilato, esperávamos que o cimento fosse apresentar-se mais citotóxico (também em função da quantidade de peróxido de benzoíla presente no cimento) quando em concentração elevada, o que não foi encontrado no presente trabalho. Encontramos que o cimento testado permaneceu menos citotóxico que o MTA quando concentrado quatro vezes em relação ao preconizado pela ISO. Resultado recente descrito por Maciel (2016) demonstrou que a citotoxicidade demonstrada pelo MTA foi relacionada com a geração de Espécies Reativas do Oxigênio (ERO), especialmente quando o material é manipulado em concentrações quatro vezes a recomendada pela ISO. No seu estudo, ficou demonstrado que a manipulação com isopropanol a 70% reduziu a formação de ERO, conforme detectado por sondas de peróxido de hidrogênio. Devido ao fato das concentrações quatro vezes mais concentradas do Palacos-R não terem apresentado morte celular, não foi necessário analisar os padrões de morte celular.

Após a análise da citotoxicidade das amostras, foram realizados experimentos *in vitro* para as comparações dos selamentos direcionados às retrobturações. Diversos estudos evidenciam que *E. faecalis* é um dos micro-organismos mais frequentes em dentes com presença de infecções persistentes ligados a casos de insucesso da terapia endodôntica (GOMES et al., 2006; SALEH et al., 2004; SEDGLEY et al., 2006; SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2004). Portanto, como o *E. faecalis* é comumente encontrado em canais radiculares de dentes com insucesso da terapia endodôntica, essa espécie microbiana foi escolhida como modelo microbiano para estudo dos processos de infiltração bacteriana. O meio escolhido nesse estudo foi o meio *Enterococosele*, meio de alta seletividade para o isolamento de

Enterococcus sp. que se baseia na formulação do Agar Bile-Esculina de Rochaix modificado por Isenberg, Goldberg e Sampson (1970) com a redução da concentração biliar e adição da azida de sódio como agente seletivo e que permite o crescimento seletivo de *Enterococcus spp.*

Em conformidade com outros modelos experimentais (SHIPPER et al., 2004a; TORABINEJAD et al., 1995a), confeccionou-se nesse estudo, um dispositivo para fixação das amostras no qual os dentes foram inseridos em tubos Eppendorf de 1,5 ml e adaptados no terço cervical. Para obter essa fixação e vedamento do dispositivo, foi realizada a impermeabilização do remanescente apical, com cianocrilato (Super Bond®), resina epóxi (Durepóxi®) e aplicação de esmalte para unhas. Com esse modelo experimental, foi possível determinar a infiltração por *E. faecalis* dos materiais testados no sentido coroa-ápice.

A capacidade de selamento dos materiais endodônticos é abordada na literatura em diversos trabalhos com a metodologia por infiltração microbiana (ADAMO et al., 1999; AL-HEZAIMI et al., 2005; BAE; BAUMGARTNER; NAKATA, 1998; CHAILERTVANITKUL et al., 1998; DE-DEUS et al., 2006a, 2006b; FISCHER; ARENS; MILLER, 1998; JACOBOVITZ et al., 2009; MALTEZOS et al., 2006; MONTELLANO; SCHWARTZ; BEESON, 2006; NAKATA; BAE; BAUMGARTNER, 1998; SHIPPER et al., 2004a; TANG; TORABINEJAD; KETTERING, 2002; TORABINEJAD et al., 1995a) e durante anos, alguns trabalhos realizados por diferentes meios de infiltração, não tiveram relevância clínica. No presente estudo utilizou-se o método de infiltração bacteriana que aparenta apresentar maior relevância clínica. Todavia, de acordo com Adamo et al. (1999) e Maltezos et al. (2006), este método também apresenta algumas limitações como por exemplo, esse método difere da cavidade oral, que possui uma microbiota mista. Nessa metodologia apenas um único microrganismo é testado e, além disso, não há a presença de saliva, sangue e fluidos teciduais encontrados nas condições clínicas. Por fim, os dentes extraídos são submetidos à esterilização por óxido de etileno apresentando alterações físicas na estrutura dentinária, fato que não ocorre *in vivo*. Apesar de todas essas limitações, a infiltração microbiana tem sido recomendada para testar a capacidade de selamento *in vitro* dos materiais retrobturadores, em vista da sua maior relevância clínica em relação aos diversos outros métodos propostos.

Na presente investigação, a capacidade seladora foi testada de maneira semelhante a metodologia descrita por Fischer, Arens e Miller (1998), por infiltração bacteriana. De acordo com Khayat, Lee e Torabinejad (1993), as metodologias que utilizam corantes são inadequadas. Os corantes e isótopos têm moléculas de pequeno tamanho, que podem não representar a infiltração de bactérias e seus subprodutos, sendo os estudos de infiltração

microbiana mais significantes e clinicamente relevantes. Segundo Torabinejad et al. (1995e), quanto mais rápido um material retrobturador endurece/agrega, mais ele contrai, isso explica porque o MTA apresenta menos infiltração por corantes ou bactérias do que outros materiais testados.

O estudo de Jacobovitz et al. (2009) relatou que, após 30 dias, não ocorreu infiltração por *E. faecalis* em amostras retrobturadas com o MTA branco e o material experimental (EndoBinder). No presente trabalho, o MTA apresentou a primeira infiltração no 29º dia de experimentação, ocorrendo outras infiltrações (2) após 44 dias de experimentação, demonstrando que durante 60 dias de experimento de infiltração ocorreu 5 infiltrações. O presente estudo não teve como objetivo comparar outros materiais retrobturadores incluindo os cimentos a base de óxido de zinco (EBA ou IRM) e o cimento CEM. O cimento Palacos-R foi lançado no mercado internacional há cerca de 30 anos, e até o momento não foram encontrados, na literatura consultada, trabalhos sobre sua capacidade de selamento com infiltração microbiana. Pesquisas prévias, relativas à citotoxicidade e sobre sua adaptação marginal, foram realizadas e o cimento apresentou semelhantes resultados quando comparado ao MTA (BADR, 2010). Desta forma, foi escolhido para ser analisado juntamente com o MTA cinza que foi colocado no trabalho como padrão ouro, devido aos excelentes resultados observados durante anos.

As amostras deste estudo foram analisadas diariamente por um período de 60 dias, o mesmo período do experimento do estudo de Torabinejad et al. (1995a). Ainda foi observado, no atual estudo, que nenhuma amostra do grupo controle negativo apresentou infiltração e, no grupo controle positivo, todas as amostras infiltraram dentro das primeiras 24 horas. Deste modo, pôde-se comprovar a confiabilidade desse método de infiltração na análise dos materiais testados.

Em todos os grupos nos quais foi realizada a obturação e a posterior retrobturação houve infiltração. Através da análise descritiva podemos observar que nas amostras retrobturadas com o MTA cinza, houve infiltração das amostras em 50% (5 infiltrações) de um total de 10 amostras. No grupo do Palacos-R, ocorreu em 20% das amostras (2 infiltrações) de um total de 10 amostras.

A análise ao MEV foi outra metodologia descrita por Torabinejad et al. (1995c) para investigar a adaptação marginal do MTA, do amálgama, do IRM e do Super-EBA. Os resultados mostraram uma melhor adaptação do MTA. Acorde Torabinejad et al. (1995c), esta metodologia na análise da interface material retrobturador-dente tem muitas deficiências. É um fenômeno superficial e pode não representar a adaptação de duas superfícies em três

dimensões. A preparação convencional de amostras biológicas antes da observação ao MEV está associada com a introdução de muitos artefatos. A evaporação em alto vácuo pode causar artefatos como rachaduras nos tecidos duros das amostras, separação e deslocamento do material, inclusive por expansão e contração do dente e do material. Apesar destas limitações, a análise ao MEV pode fornecer informações que sugerem a capacidade seladora dos materiais. Apesar de terem sido evidenciadas alterações das dimensões do material retrobturador tais como rachaduras, foi possível observar que o processo de microfraturas das amostras não comprometeu a adaptabilidade do material e que os testes de infiltração associados conseguiram mostrar que a adaptabilidade do material apresentou compatibilidade com o encontrado ao MEV.

Um estudo com microscopia eletrônica de varredura, utilizando um simulador de mastigação computadorizado com o equivalente a cinco anos de força mastigatória, para verificar se a carga oclusal altera a adaptação marginal do Super-EBA e do MTA (ProRoot) nas retrobturações ou se promove o aparecimento de microfissuras foi realizado por Peters & Peters (2002). Constataram que em 12.5% das raízes houve microfissuras antes da carga que aumentou para 25% após. Antes da aplicação da força, observou-se uma margem contínua de Super-EBA (99.4%) e MTA (99.2%), mas após a carga essa porcentagem caiu ligeiramente para (93.1%) e (98.9%) respectivamente. O trabalho de Torabinejad et al. (1995e) ressaltou que como os materiais retrobturadores não recebem pressão diretamente sobre eles, a resistência a compressão desses materiais não influi tanto quanto os materiais utilizados nas superfícies oclusais e que o aumento da resistência compressiva do MTA com o tempo, aconteceu devido a presença de umidade, contudo o valor obtido para o MTA foi similar ao do Super-EBA, IRM e cimento fosfato de zinco. A presente pesquisa foi realizada sem carga e mostrou a presença de traços de fissuras nas estruturas dentárias circundantes que por vezes penetravam nas retrobturações efetuadas com MTA. Na Figura 14, do MEV, podemos observar uma estrutura superficial mais granulosa do cimento MTA. Todas as fotografias realizadas com o Palacos-R em MEV mostraram uma boa adaptabilidade e fluidez do cimento em defeitos observados tais como microfraturas da raiz, demonstrando a adaptabilidade do cimento ortopédico, inclusive sobre microfraturas prévias ao preparo para análise ao MEV.

No estudo de Storm et al. (2008), o MTA cinza teve uma expansão após a presa significativamente maior do que o branco, provavelmente pela presença do alumino ferrítico tetracálcio, o que possivelmente, segundo os autores, promoveria um melhor selamento. Na presente investigação, utilizamos o MTA cinza e a comparação com a infiltração mostrou que ocorreu menor infiltração onde os retropreparos foram obturados com o Palacos-R, apesar de

não ter ocorrido diferenças estatísticas entre os dois cimentos retrobturadores testados. Tal capacidade de ser menos permeável à infiltração bacteriana e ter se apresentado com melhor escoamento e adaptabilidade quanto à MEV tornou o Palacos-R com melhor correlação entre as imagens do MEV e a infiltração bacteriana, ao contrário do que vem sendo observado por outros autores com outros materiais. Os trabalhos de Abdal e Retief (1982) usando penetração passiva de corante e MEV para determinar a capacidade seladora de outros materiais retrobturadores e de Yoshimura, Marshal e Tinkle (1990), usando filtração de fluido pressurizada e MEV para testar retrobturações com amálgama, também não mostraram correlação entre o processo infiltrativo e a microscopia eletrônica de varredura. Entretanto, a utilização do material ainda carece de pesquisas acerca do selamento tridimensional dos SCR e que ainda são necessárias para o aprimoramento e para o seu uso clínico como cimento retrobturador, inclusive com adição de substâncias antimicrobianas, tendo em vista que a região perirradicular pode apresentar biofilmes estruturados e que a atividade antimicrobiana nos cimentos retrobturadores é importante para a manutenção do equilíbrio e do favorecimento ao reparo após o procedimento cirúrgico. Todas essas características são importantes para o prognóstico pós-cirúrgico dos elementos submetidos à cirurgia paraendodôntica.

O estudo não pretende substituir o MTA em todos os procedimentos e que suas propriedades importantes na formação de barreiras em pulpotomias e nos protocolos de revascularização tornam o MTA muito seletivo quanto ao seu uso em endodontia.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pôde-se concluir que:

- Na análise ao MEV, o cimento ósseo Palacos-R mostrou melhor adaptação ao retropreparo do que o MTA cinza;
- Não ocorreu diferença significativa na capacidade seladora entre os cimentos MTA cinza e Palacos-R, avaliada através do ensaio de infiltração bacteriana *ex-vivo* com *Enterococcus faecalis*;
- Os cimentos MTA cinza e Palacos-R não demonstraram atividade citotóxica sobre as células L929, mas o cimento Palacos-R demonstrou um menor padrão de citotoxicidade nos extratos duplamente concentrados.

REFERÊNCIAS

- ABDAL A.K.; RETRIEF D. H. The apical seal via retrosurgical approach. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** St Louis, v. 53, p. 614-621, 1982.
- ADAMO, H. L. et al. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.32, n.3, p.197-203, May 1999.
- AKBARI, M., et al. A Effect of nano sílica on setting time and physical properties of mineral trioxide aggregate. **J. Endod.**, v. 39, n. 11, p.1448-1451, 2013.
- AL-AHMAD, A. Endodontic and salivary isolates of *Enterococcus faecalis* integrate into biofilm from human salivary bacteria cultivated *in vitro*. **J. Endod.**, Baltimore, v.35, n.7, p.986-991, July 2009.
- AL-HEZAIMI, K., et al. Human saliva penetration of root canals obturated with two types of Mineral Trioxide Aggregate cements. **J. Endod.**, Baltimore, v.31, n.6, p.453-456, June 2005.
- AL-HEZAIMI, K., et al. Comparison of Antifungal Activity of White-colored and Gray-colored Mineral Trioxide Aggregate (MTA) at Similar Concentrations against *Candida albicans*. **J Endod.** v.32, p.365-367, 2006.
- BADR, A. E. Marginal adaptation and cytotoxicity of bone cement compared with amalgam and mineral trioxide aggregate as root-end filling materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.36, n.6, p.1056-1060, June 2010.
- BAE, K. S.; BAUMGARTNER, J. C.; NAKATA, T. T. Development of an anaerobic bacterial leakage model. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.4, p. 233-235, Apr. 1998.
- BATES, C. F.; CARNES, D. L.; DEL RIO, C. E. Longitudinal sealing ability of Mineral Trioxide Aggregate as a root-end filling material. **J. Endod.**, Baltimore, v.22, n.11, p.575-578, Nov. 1996.
- BIDAR, M., et al. Comparative SEM study of the marginal adaptation of white and grey MTA and Portland cement. **Aust. Endod. J.** 33: 2-6, 2007
- BIRD, D. C., et al. *In vitro* evaluation of dentinal tubule penetration and biomineralization ability of a new root-end filling material. **J. Endod.**, v. 38, n. 8, p. 1093-1096, 2012.
- BOLHARI B., et al. Acid and microhardness of mineral trioxide aggregate and mineral trioxide aggregate-like materials. **J Endod.** Chicago. v.40 n.3, p.432-435, 2014.
- CARR, G. B.; Microscopes in endodontics. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 20, n. 11, p. 55-61, 1992.

CHAILERTVANITKUL, P., et al. Polymicrobial coronal leakage of super EBA root-end fillings following two methods of root-end preparation. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.31, n.5, p. 348-352, Sept. 1998.

CHAN, K.; AHMED, A. M.; JOHNSON, JA. Polymethylmethacrylate. In: MORREY, B. F. **Reconstructive surgery of the joints**. 2.ed. [s.l.]: [s.n.]. 1996 apud BARROS, C. A. M. **Estudo comparativo da resistência à compressão do cimento ósseo nacional e do importado, preparados manualmente e a vácuo**. 2001. 132f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Faculdade de Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

CHANG S-W, et al . Effects of ProRoot MTA, Bioaggregate, and Micromega MTA on odontoblastic differentiation in human dental pulp cells. **J Endod.** v.40, n.1, p.113-118, 2014.

_____. Heavy metal analysis of ortho MTA and ProRoot MTA. **J. Endod.**, v. 37, n. 12, p. 1673-1676, 2011.

CHARLAND T., et al. An evaluation of setting time of mineral trioxide aggregate and endosequence root repair material in the presence of human blood and minimal essential media. **J Endod.** 39(8):1071-1072, August 2013.

COHEN, S.; HARGREAVES, K. M. **Pathways of the pulp**. 9th ed. St. Louis: Mosby, 2007.

DE-DEUS, G., et al. Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. **Int. Endod. J.**, v. 38, p. 604-609, 2005.

DE-DEUS, G., et al. MTA versus Portland cement as repair material for furcal perforations: a laboratory study using a polymicrobial leakage model. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.39, n.4, p.293-298, Apr. 2006a.

_____. Polymicrobial leakage of four root canal sealers at two different thicknesses. **J. Endod.**, Baltimore, v.32, n.10, p.998-1001, Oct. 2006b.

ESTRELA, C., et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. **Braz Dent J.** v.11 (1), p.3-9, 2000.

FERREIRA, M. S. **Resistência de três materiais retrobturadores frente à infiltração microbiana por Enterococcus faecalis**. Dissertação (Mestrado em Endodontia) - UERJ. Rio de Janeiro, 58f. 2011.

FERRIS, D.M., BAUMGARTHER, J.C. Perforation Repair Comparing Two Types of MTA. **J Endod.** v.30, p.422-424, 2004.

FISCHER, E. I.; ARENS, D. E.; MILLER, C. H. Bacterial leakage of MTA as compared with zinc-free amalgam, IRM and Super EBA as a root-end filling material. **J. Endod.**, v. 24, n. 3, p.176-179, 1998.

FOGEL, H. M.; PEIKOFF, M. D. Microleakage of root-end filling materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.27, n.7, p.456-458, July 2001.

FREDERICO, P. G., et al. Análise da citotoxicidade do agregado de trióxido mineral (MTA-branco) em cultura de odontoblastos. Influência dos tempos de presa e do armazenamento do material em meio líquido. **Rev. Odontol. UNESP**, v. 35, n. 4, p. 319-326, 2006.

GANDOLFI, M. G., et al. New tetrasilicate cements as retrograde filling material: an *in vitro* study on fluid penetration. **J. Endod.**, Baltimore, v.33, n.6, p.742-745, June 2007.

GOMES, B.P.F.A., et al. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.102, n.2, p.247-253, Aug. 2006.

GONÇALVES, J. L, et al. Evaluation of physico-chemical properties of Portland cements and MTA. **Braz. Oral Res.**, v. 24, n. 3, p. 277-283, 2010.

HAÏKEL, Y., et al. A new method for the quantitative analysis of endodontic microleakage. **J Endod.**, Baltimore, v. 25, n. 3, p. 172-177, Mar. 1999.

HERNANDEZ, E.P., et al. Effect of ProRoot® MTA mixed with Chlorhexidine on Apoptosis and Cell Cycle of Fibroblasts and Macrophages *in vitro*. **Int Endod J.** v.38, p.137-143, 2005.

HOLLAND, R., et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J Endod.** v.25(3), p.161-6, 1999.

_____. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. **J. Endod.**, v. 12, n. 1, p. 3-8, 2001.

HOLLAND, R., et al. Reaction of a rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. **Braz Dent J.** v.13, p.23-6, 2002.

HOLT, D.M., et al. The Anti-microbial Effect Against *Enterococcus faecalis* and the Compressive Strength of Two Types of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Sterile Water or 2% Chlorhexidine Liquid. **J Endod.** v.33 (7), p.844-847, 2007.

HSIEH S-C, et al. A novel accelerator for improving the handling properties of dental filling materials. **J Endod.** v.35 (9), p.1292-1295, 2009.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION ISO, 2009.

ISENBERG, H. D.; GOLDBERG, D.; SAMPSON, J. Laboratory studies with a selective *Enterococcus* medium. **Appl. Microbiol.**, Bedford, v. 20, n.3, p.433-436, Sept. 1970.

IZEPPE, N. N. M.; GARCIA, R. B.; NISHIYAMA, C. K. Avaliação "in vitro" da capacidade seladora dos cimentos MTA, endomethasone e sealer 26 em obturação retrógrada. In: Encontro Científico da Pós-Graduação do HRAC-USP, 5., 2003, Bauru. **Anais...** Bauru: HRAC-USP, 2003.

JACOBOVITZ, M., et al. Root canal filling with cements based on mineral aggregates: an *in vitro* analysis of bacterial microleakage. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.108, n.1, p.140-144, July 2009.

- JI D-Y, et al. Effects of a novel hydration accelerant on the biological and mechanical properties of white mineral trioxide aggregate. **J Endod.** v.37 (6), p.851-855, 2011.
- KHAYAT, A.; LEE, S. J.; TORABINEJAD, M. Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canals. **J. Endod.**, v. 19, n. 9, p. 458-461, 1993.
- LAVÔR, M. L. T., et al. Uso de hidróxido de cálcio e MTA na odontolgia: conceitos, fundamentos e aplicação clínica. **SALUSVITA**, Bauru, v. 36, n. 1, p. 99-121, 2017.
- LEE, B. N., et al. Cytotoxicity of newly developed Ortho MTA root-end filling materials. **J. Endod.**, v. 38, n. 12, p. 1627-1630, 2012.
- LEE, S. J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **J. Endod.**, v. 19, p. 541-544, 1993.
- LEE, W.; LIM, S.; SON, H. Sonicated extract of *Enterococcus faecalis* induces cell cycle arrest in phytohemagglutinin-activated human lymphocytes. **J. Endod.**, v.30, p. 209-212, 2004.
- LESSA F. C. R., et al. Cytotoxic effects of white-MTA and MTA-Bio cements on odontoblast-like cells (MDPC-23). **Braz. Dent. J.**, v. 21, n. 1, p. 24-31, 2010.
- LISBÔA, I. E.; SILVA NETO, U.X.; CARNEIRO, E. et al. Sealing ability and penetration intratubular MTA Fillapex and AH Plus in human teeth. **Rev Odontol UNESP.** V. 46, n. 1, p. 7-13, 2017.
- MACIEL, A. C. C. **Análise comparativa dos cimentos MTA cinza e branco associados ao álcool isopropílico.** Tese (Doutorado em Endodontia) - UERJ. Rio de Janeiro, 79f. 2016.
- MALTEZOS, C.; GLICKMAN, A.; EZZO, A. Comparison of the sealing of Resilon, Pro Root MTA, and Super-EBA as root-end filling materials: a bacterial leakage study. **J. Endod.**, Baltimore, v.32, n.4, p.324-327, Apr. 2006.
- MAZUREK C., et al. Atividade Antimicrobiana de materiais reparadores de uso endodontico pelos testes de difusao em Agar e por contato direto. **Rev. Bras.odontol.**, v.69, n.1, p.25-9, Jan.-jun. 2012.
- MC HUGH, C. P.; ZANG, P.; MICHALEK, S. Ph required to kill *Enterococcus faecalis in vitro*. **J. Endod.**, v. 30, p.218-219, 2004.
- MOHAMMADI, Z.; MODARESI, J.; YAZDIZADEH, M. Evaluation of antifungal effects of mineral trioxide aggregate material. **Australian Endod J.**, v.32, p. 120-122, 2006.
- MONTELLANO, A. M.; SCHWARTZ, S. A.; BEESON, T. J. Contamination of tooth-colored Mineral Trioxide Aggregate used as a root-end filling material: a bacterial leakage study. **J. Endod.**, Baltimore, v.32, n.5, p.452-455, May 2006.
- NAKATA, T. T.; BAE, K. S.; BAUMGARTNER, J. C. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.3, p.184-186, Mar. 1998.

NAKAZONE, P. A., et al. Avaliação do selamento de perfurações radiculares em entes bovinos empregando solução corante rodamina. **Braz. Oral Res.**, v. 21, p. 95-128, 2007.

PARIROKH, M., et al. Effect of phosphate buffer saline on coronal leakage of mineral trioxide aggregate. **J. Oral Sci.**, v. 51, n. 2, p. 187-191, 2009.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-part I: chemical, physical and antibacterial properties. **J. Endod.**, v. 36, n. 1, p.16-27, 2010a.

_____. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. **J. Endod.**, v. 36, n. 3, p. 400-413, 2010b.

PEREIRA DE SOUSA, H., et al., Tratamento cirúrgico e uso de MTA em perfuração radicular – Relato de caso. **Rev. Odont. (ATO)**, Bauru, SP., v. 17, n. 1, p. 100-110, jan., 2017.

PETERS, C. I.; PETERS, O. A. Occlusal loading of EBA and MTA root-end fillings in a computer controlled mastigator: a scanning electron microscopic study. **Int. Endod. J.**, v. 35, p. 22-29, 2002.

RAHIMI S., et al. Osseous reaction to implantation of two endodontic cements: Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). **Med Oral Patol Oral Cir Bucal** v. 17 (5): e907-e911, 2012.

RIBEIRO, C.S., et al. Comparative Evaluation of Antimicrobial Action of MTA, Calcium Hydroxide and Portland Cement. **J Appl Oral Sci.** v.14 (5), p.330-333, 2006.

RUBINSTEIN, R. Magnification and illumination in apical surgery. **Endod. Topics.**, v. 11, p. 56-77, 2005.

SALEH, I. M., et al. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers *in vitro*. **Int. Endod J.**, Oxford, v.37, n.7, p.193-198, Mar. 2004.

SAMARA, A., et al. A Comparative Study of the Effects of Three Root-end Filling Materials on Proliferation and Adherence of Human Periodontal Ligament Fibroblasts. **J Endod.** v.37, p.865-70, 2011.

SANTIAGO C. N., et al. Revascularization technique for the treatment of external inflammatory root resorption: a report of 3 cases. **J Endod.** v.41(9), p.1560-1564, 2015.

SEDGLEY, C. M. The influence of root canal sealer on extended intracanal survival of *Enterococcus faecalis* with and without gelatinase production ability in obtured root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v.33, n.5, p.561-566, May 2007.

SEDGLEY, C. M.; BUCK, G.; APPELBE, O. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. **J. Endod.**, Baltimore, v.32, n.3, p.173-177, Mar. 2006.

SEDGLEY, C. M.; LENNAN, S. L.; APPELBE, O. K. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. **Int. Endod J.**, Oxford, v.38, n.10, p.735-742, Oct. 2005.

SHIPPER, G.; TROPE, M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). **J. Endod.**, Baltimore, v.30, n.5, p.342-347, May 2004a.

_____. Marginal adaptation of mineral trioxide aggregate (MTA) compared with amalgam as a root-end filling material: low-vacuum (LV) versus high-vacuum (HV) SEM study. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.37, n.5, p.325-336, May 2004b.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Polymerase chain reaction- based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.97, n.1, p.85-94, Jan. 2004.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; LOPES, H. P. **Endodontia, biologia e técnica**. Rio de Janeiro: Medsi, 1999.

SIQUEIRA, P.C., et al. Antimicrobial and physical-chemical properties of portland cement associated with different concentrations of calcium oxide. **Rev Odontol Bras Central**. V. 26, n. 77, p. 20-25, 2017.

STORM B., et al. Setting Expansion of gray and white Mineral Trioxide Aggregate and Portland cement. **J Endod**, vol 34, n 1, p. 80-2, January 2008.

STOWE, T.J., et al. The Effect of Chlorhexidine Gluconate (0.12%) on the Antimicrobial Properties of Tooth-Colored ProRoot Mineral Trioxide Aggregate. **J Endod**. v.30, p.429-43, 2004.

STUART, C. H, et al. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **J. Endod.**, Baltimore, v.32, n.2, p.93-98, Feb. 2006.

TAGGER, M., et al. Avaliation of the apical seal produced by a hybrid root canal filling method, combining lateral condensation and thermatic compaction. **J. Endod.**, v.10, n.7, p.299-303, 1984.

TANG, H. M.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J. Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin. **J. Endod.**, Baltimore, v.28, n.1, p.5-7, Jan. 2002.

TANOMARU FILHO, M. **Capacidade de selamento das técnicas de obturação retrógrada, retroinstrumentação com retrobturação e associação destas, utilizando-se os cimentos N-Rickert, CRCS e Sealer 26**. Bauru, 1992. 137 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1992.

TANOMARU FILHO, M., et al. Evaluation of periapical repair following retrograde filling with different root-end filling materials in dog teeth with a periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.102 , n.1, p.127-132, July 2006.

TANOMARU FILHO, M.; TANOMARU, J.M.G.; LEONARDO, M.R. Capacidade seladora de materiais utilizados em perfurações radiculares laterais. **FOL.**, v.14, n.1, p.40-43, 2002.

TELLES, I.S.F.; PRADO, M.; SIMÃO, R.A. Nanoparticles and endodontics applications: a literature review. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 74, n. 2, p. 167-75, abr./jun. 2017.

THEODOSOPOULOU, J. N.; NIEDERMAN, R. A Systematic review of *in vitro* retrograde obturation materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.31, n.5, p.341-349, May 2005.

THOMSON, T.S., et al. Cementoblasts Maintain Expression of Osteoclastin in the Presence of Mineral Trioxide Aggregate. **J Endod.** v.29, p.407-412, 2003.

TORABINEJAD, M, et al. Bacterial leakage of Mineral Trioxide Aggregate as a root-end filling material. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.3, p.109-112, Mar. 1995a.

_____. Antibacterial effects of some root end filling materials. **J. Endod.**, v. 21, n. 8, p. 403-406, 1995b.

_____. Comparative investigation of marginal adaptation of Mineral Aggregate and other commonly used root-end filling materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.6, p.295-299, June 1995c.

_____. Citotoxicity of four root end filling materials. **J. Endod.**, v. 21, n.10, p. 489-494, 1995d.

_____. Histologic assesment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. **J. Endod.**, v. 23, n. 4, p. 225-228, 1997.

_____. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. **J. Endod.**, v. 21, n. 12, p. 603-607, 1995e.

_____. Physical and chemical properties of new root-end filling material. **J. Endod.**, v. 21, n. 7, p. 349-533, 1995f.

_____. Tissue reaction to implanted root end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs: a preliminary report. **J. Endod.**, v. 21, n. 11, p. 569-571, 1995g.

_____. Tissue reaction to implanted root end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. **J. Endod.**, v. 24, n. 7, p. 468-471, 1998.

TORABINEJAD, M.; WATSON, T. F.; PITT FORD, T. R. Sealing ability of a Mineral Trioxide Aggregate when used as a root end filling material. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.12, p.591-595, Dec. 1993.

TORABINEJAD, M.; PARIROKH, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-part II: leakage and biocompatibility investigations. **J. Endod.**, v. 36, n. 3, p.190-202, 2010.

VALOIS, C. R. A.; COSTA JÚNIOR, E. D. Influence of the thickness of mineral trioxide aggregate on sealing ability of root-end fillings *in vitro*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.97, n.1, p.108-111, Jan. 2004.

WU, M. K.; KONTAKIOTIS, E. G.; WESSELINK, P. R. Long-term seal provided by some root-end filling materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.8, p.557-560, Aug. 1998.

XAVIER, C. B. ; WEISMANN,R.; DE OLIVEIRA,M.G.; DEMARCO,F.F.; POZZA,D.H. . Root-end filling materials: apical microleakage and marginal adaptation. **J. Endod.**, Baltimore, v.31, n.7, p.539-542, July 2005.

YAMAMOTO, M.; et al. Newly developed mineral trioxide aggregate containing polyvinyl alcohol. **Dent. Mater. J.**, v.31, n. 6, p. 1014-1020, 2012.

YATSUSHIRO, J. D.; BAUMGARTNER, J.C.; TINKLE, J. S. Longitudinal study of the microleakage of two root-end filling materials using a fluid conductive system. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.11, p.716-719, Nov. 1998.

YOSHIMURA M.; MARSHAL F.J.; TINKLE J.S. *In vitro* quantification of the apical sealing ability of retrograde amalgam. **J. Endod.**, v. 16, p. 9-11, 1990.

ZEHNDER, M.; GUGGENHEIM, B. The mysterious appearance of *enterococci* in filled root canals. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.42, n.4, p.277-287, Apr. 2009.

ZHANG, H.; PAPPEN, F. G.; HAAPASALO, M. Dentin enhances the antibacterial effect of MTA and bioaggregate. **J. Endod.**, v. 35, n. 2, p. 221-224, 2009.

ANEXO - Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Rio de Janeiro, 18 de maio de 2011

Do: Comitê de Ética em Pesquisa
Prof.: Wille Oigman
Para: Aut. Marcio Salles Ferreira / Orient.Profa. Sandra Rivera Fidel

Registro CEP/HUPE: 2931 (este número deverá ser citado nas correspondências referentes ao projeto)
CAAE: 0080.0.228.000-11

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "AVALIAÇÃO DE TRÊS MATERIAIS RETROBTURADORES FRENTE A INFILTRAÇÃO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS." aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Prof. Wille Oigman
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
HUPE/UERJ