



CARLOS AUGUSTO DE MORAIS SOUTO PANTOJA

“INFLUENCE OF ETHANOL ON THE SURFACE ROUGHNESS, THE SURFACE
FREE ENERGY OF THE ROOT DENTIN AND FILLING DENTINAL TUBULES
WITH AH PLUS SEALER”

*“INFLUÊNCIA DO ETANOL NA RUGOSIDADE, NA ENERGIA LIVRE DE SUPERFÍCIE
DA DENTINA RADICULAR E NO PREENCHIMENTO DE TÚBULOS DENTINÁRIOS”*

PIRACICABA

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

CARLOS AUGUSTO DE MORAIS SOUTO PANTOJA

“INFLUENCE OF ETHANOL ON THE SURFACE ROUGHNESS, THE SURFACE
FREE ENERGY OF THE ROOT DENTIN AND FILLING DENTINAL TUBULES
WITH AH PLUS SEALER”

Orientador: José Flávio Affonso de Almeida

Co-orientador: Caio Cezar Randi Ferraz

“INFLUÊNCIA DO ETANOL NA RUGOSIDADE, NA ENERGIA LIVRE DE
SUPERFÍCIE DA DENTINA RADICULAR E NO PREENCHIMENTO DE TÚBULOS
DENTINÁRIOS”

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica na área de Endodontia.

Doctorate thesis presented to the Dental Clinic Postgraduation Programme of the Piracicaba Dental School of the University of Campinas to obtain the Ph.D. grade in Dental Clinic in Endodontics.

Este exemplar corresponde a versão final da Dissertação defendida pelo aluno Carlos Augusto de Moraes Souto Pantoja, e orientado pelo Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida

Assinatura do Orientador

PIRACICABA

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARILENE GIRELLO – CRB8/6159 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

P196i Pantoja, Carlos Augusto de Moraes Souto, 1982-
Influência do etanol na rugosidade, na energia livre de
superfície da dentina radicular e no preenchimento de túbulos
dentinários com cimento AH Plus / Carlos Augusto de Moraes
Souto Pantoja. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: José Flávio Affonso de Almeida.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Etanol. 2. Dentina. 3. Obturação do canal radicular. I.
Almeida, José Flávio Affonso de, 1979- II. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Influence of ethanol on the surface roughness, the surface
free energy of the root dentin and filling tubules with AH Plus sealer

Palavras-chave em Inglês:

Ethanol

Dentin

Root canal obturation

Área de concentração: Endodontia

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

José Flávio Affonso de Almeida [Orientador]

Marcelo Tavares de Oliveira

Leonardo Gonçalves Cunha

Márcia Carneiro Valera

Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Data da defesa: 29-04-2013

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 29 de Abril de 2013, considerou o candidato CARLOS AUGUSTO DE MORAIS SOUTO PANTOJA aprovado.

Prof. Dr. JOSÉ FLÁVIO AFFONSO DE ALMEIDA

Prof. Dr. MARCELO TAVARES DE OLIVEIRA

Prof. Dr. LEONARDO GONÇALVES CUNHA

Profa. Dra. MÁRCIA CARNEIRO VALERA

Profa. Dra. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

DEDICATÓRIA

À **Deus**, por estar sempre ao meu lado... me dando forças para enfrentar com sabedoria todos os momentos da minha vida... me guiando para a realização dos meus sonhos.

Aos meus queridos e amados pais, **José Carlos Souto Pantoja e Maria Terezinha de Morais Pantoja**, pelos valores humanos cultivados ao longo dos anos....
Dedico todas minhas conquistas a vocês.

Aos meus queridos irmãos **Carlos Henrique e Carlos Eduardo**...
pelo companheirismo e constante apoio... pela amizade e carinho demonstrado em todos os momentos. Me orgulho muito de vocês!

À minha linda esposa **Juliana**, muito mais do que especial... Fantástica!
Um presente maravilhoso de Deus... Obrigado por tudo e, principalmente por fazer parte de mais uma conquista para nossas vidas.

À minha filha **Maria Luísa**... Poxa vida! Que amor é este? Que sentimento é este... que cresce a cada dia e me transforma em um ser humano mais feliz e mais atento... aos pequenos gestos e simples sorrisos... Isso, não tem preço! O papai te ama!

Dedico este trabalho...

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, ***Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida***, pela amizade, respeito e confiança. Agradeço pelos ensinamentos, pelas conversas e pelo agradável convívio. Zé, está é mais uma etapa concluída, mais uma conquista, na qual você faz parte, como grande responsável, um verdadeiro mestre, doutor e professor, que soube conduzir com muita sabedoria, mostrando os melhores caminhos a serem seguidos. Dizer obrigado, talvez seja pouco... o melhor é falar que essa amizade será eterna.

Ao ***Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz***... Grande amigo, incentivador e colaborador para a realização de inúmeros projetos profissionais. Muito bom contar com pessoas, que transmitem energia positiva em todos os momentos, deixando-o sempre motivado a realizar além de suas expectativas. Obrigado, meu amigo Caio. Obrigado pelo carinho recebido por esta maravilhosa família, ***Alessandra e Luíza***.

Meus sinceros agradecimentos...

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do diretor **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior** e do diretor associado **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia**.

À **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, Coordenadora Geral dos Cursos de Pós-Graduação e ao **Prof. Dr. Márcio de Moraes**, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

Ao **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia**, responsável pela Área de Endodontia da FOP/UNICAMP, pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Prof. Dr. Caio César Randi Ferraz, Prof. Dr. Francisco José de Souza-Filho, e Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida**, professores da disciplina de Endodontia da FOP-UNICAMP, pelos conhecimentos transmitidos e agradável convivência e amizade.

Aos **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, Prof. Dr. Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo, Prof(a). Dr(a). Vanessa Bellochio Berber Haddad e Prof(a). Dr(a). Fernanda Miori Pascon** componentes como membros titulares e suplente da Comissão Examinadora do Exame de Qualificação, pela disponibilidade e importante contribuição a este trabalho.

Aos **Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida, Prof(a). Dr(a). Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Prof(a). Dr(a). Marcia Carneiro Valera Garakis, Prof. Dr. Marcelo Tavares de Oliveira, Prof. Dr. Leonardo Gonçalves Cunha, Prof(a). Dr(a). Roberta Caroline Bruschi Alonso, Prof. Dr. Daniel Pinto de Oliveira e Prof. Dr. Adriano Fonseca de Lima** componentes com membros titulares e suplentes da Comissão Examinadora do

Exame de Defesa de Tese, pela contribuição a este trabalho e pelas importantes sugestões e conselhos oferecidos.

Aos colegas do Laboratório de Endodontia *Ana Carolina Pimentel Corrêa, Aniele Carvalho Lacerda, Ariane Cássia Salustiano Marinho, Carolina Carvalho de Oliveira Santos, Cimara Barroso Braga Brum, Cláudia Leal Sampaio Suzuki, Daniel Rodrigo Herrera Morante, Daniela Cristina Miyagaki, Emmanuel João Nogueira Leal da Silva, Érika Manuela Astéria Clavijo, Felipe Nogueira Anacleto, Giselle Priscilla Cruz Abi Rached, Jefferson José de Carvalho Marion, Juliana Yuri Nagata, Karine Shell de Moraes Nicastro, Maria Rachel Figueiredo Penalva Monteiro, Thais Mageste Duque, Thiago Farias Rocha Lima e Tiago Pereira da Rosa* pelo companheirismo, amizade e pelo convívio durante todo este tempo. Sinto-me privilegiado pelos momentos que passamos juntos.

Às minhas queridas amigas *Ana Cristina do Amaral Godoy, Geovana Caldas de Almeida, Maria Helidia Neves Pereira e Wanderly Lima de Almeida Pavinatto* por serem sempre solícitas e companheiras. Agradeço muito pela amizade e carinho.

À *Eliene* e ao *Adriano* pelo carinho, disposição e principalmente, pela amizade demonstrada durante a realização dos trabalhos no Microscópio Confocal de Varredura a Laser.

Às minhas queridas avós, *Nenê, Alina e Elvira*, pelas orações, colaborações e risadas. Amo muito vocês.

Às nossas eternas companheiras, *Vanete, Têre, Célia e Juanita*, pela paciência e ajuda em todo os momentos.

Ao meu sogro *Júlio Sérgio Nuñez Gago*, à minha sogra *Rosana Maria Costa Nuñez*, ao meu cunhado *Amoracyr José Costa Nuñez*, às minhas cunhadas *Ludmilla, Dayane* e

Vivian e aos meus queridos sobrinhos *João Pedro* e *Bernardo*... obrigado pelo apoio, carinho e pelo constante incentivo de ir em busca de novas conquistas. Minha eterna gratidão pelo bem recebido por vocês.

Aos meus familiares, que sempre torceram por meu sucesso.

A todos os meus amigos que sempre estiveram torcendo por mim.

A todos que participaram de forma direta e indireta, contribuindo para a elaboração desse trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Este trabalho foi dividido em 2 capítulos, sendo que no capítulo 1 o objetivo foi de avaliar a influência do etanol na rugosidade, na energia livre de superfície da dentina radicular e na interação entre o cimento AH Plus e a superfície dentinária. Foram selecionadas 100 raízes de dentes humanos anteriores superiores e padronizadas com comprimento de 18 mm. As raízes foram cortadas longitudinalmente, obtendo-se 200 amostras dentinárias, divididas aleatoriamente em 4 grupos (n = 50), de acordo com os métodos de secagem: (1) úmido: apenas aplicação de ponta aspiradora, (2) pontas de papel absorvente: ponta aspiradora + pontas de papel absorventes, (3) solução de etanol 70%: etanol 70% (1 minuto) + ponta aspiradora + pontas de papel absorvente, (4) solução de etanol 100%: etanol 100% (1 minuto) + ponta aspiradora + pontas de papel absorvente. As amostras dentinárias foram avaliadas com o auxílio do rugosímetro e goniômetro, dentro dos seguintes parâmetros de avaliação: (1) rugosidade superficial; (2) energia livre de superfície e (3) ângulo de contato formado entre o cimento AH Plus e superfície dentinária. No capítulo 2, o objetivo foi avaliar a influência do etanol no preenchimento dos túbulos dentinários. Foram selecionadas 40 raízes de dentes humanos anteriores superiores, com comprimento radicular padronizado em 18 mm, e divididas aleatoriamente nos mesmos 4 grupos descritos anteriormente. Após a instrumentação, as raízes foram obturadas pela técnica de Schilder, com guta-percha e cimento AH Plus misturado com o marcador fluorescente Rodamina B. Para a visualização em microscopia confocal de varredura a laser foram confeccionadas 4 secções transversais (1 mm de espessura), em cada terço radicular. Foram avaliados os seguintes parâmetros: (1) porcentagem do perímetro da parede do canal coberta com cimento; (2) máxima profundidade de penetração do cimento endodôntico no interior dos túbulos dentinários; (3) porcentagem da área da dentina penetrada pelo cimento e (4) valor da intensidade do marcador fluorescente Rodamina B. Os resultados encontrados foram analisados estatisticamente pelos testes ANOVA / Tukey, com nível de significância de 5%, em ambos os capítulos. No capítulo 1 observou-se que nos grupos em que se utilizou o etanol, quando comparados aos demais, foram encontrados menor

rugosidade de superfície da dentina, maior energia livre de superfície e menor ângulo de contato formado entre o cimento AH Plus e a superfície dentinária. Já no capítulo 2, não foi verificada diferença significativa entre os grupos, quanto a avaliação da porcentagem do perímetro da parede do canal coberta por cimento. Entretanto, maiores valores de profundidade de penetração e da porcentagem da área da dentina penetrada pelo cimento foram encontrados no Grupo etanol 100%, seguidos pelos Grupos etanol 70%, pontas de papel e úmido. O etanol 100% atingiu resultados significativamente maiores que a concentração 70%, exceto para a intensidade da Rodamina B no terço cervical. Além disso, os resultados do Grupo pontas de papel foram melhores que o Grupo úmido, com exceção da intensidade da Rodamina B no terço apical. Diante da análise dos resultados apresentados nos 2 capítulos, verificou-se que o etanol (70% e 100%) proporcionou melhor molhabilidade do cimento AH Plus na superfície dentinária. Da mesma forma, as soluções de etanol, especialmente na concentração de 100%, favoreceram a penetração do cimento endodôntico no interior dos túbulos dentinários.

Palavras-chave:

Etanol, Dentina, Obturação do canal radicular.

ABSTRACT

This study was divided into 2 chapters. In chapter 1, the aim was to evaluate the influence of ethanol on dentin roughness, dentin surface free energy and interaction between dentin surface. A hundred roots of human maxillary teeth were selected with length standardized in 18 mm. The roots were split longitudinally yielding 200 dentin samples, which were divided randomly into 4 groups according to the drying method used: (1) wet: vaccum only (2) paper points: vaccum + absorbent paper points, (3) 70% alcohol: 70% alcohol (1min) + vaccum + absorbent paper points and (4) 100% alcohol group: 100% alcohol (1min) + vaccum + absorbent paper points. The specimens were measured with aid of goniometer and rugosimeter within the following evaluation parameters: (1) surface roughness, (2) surface free energy and (3) contact angle formed between AH Plus sealer and dentin surface. In Chapter 2, the aim was to evaluated the influence of ethanol on dentinal tubules filling. Forty roots of human maxillary teeth with length standardized in 18 mm were selected. The roots were randomly divided among the same 4 groups described above. After instrumentation, the roots were filled by Schilder's technique with gutta-percha and AH Plus mixed with rhodamine B fluorescent marker. The roots were cross-sectioned and dentin sections (1 mm thick) were analyzed by confocal laser scanning microscopy. The evaluation parameters were: (1) Percentage of root canal wall coverage, (2) maximum depth of sealer penetration into dentinal tubules, (3) percentage of penetrated area and (4) fluorescent rhodamine B intensity. The results were statistically analyzed by ANOVA and Tukey tests ($\alpha=5\%$). In Chapter 1 the groups in which ethanol was used lower dentin surface roughness, higher surface free energy and lower contact angle formed between AH Plus and dentin surface were found when compared to the control groups. In chapter 2, there was no significant difference between the groups regarding the percentage of root canal wall coverage. Higher values of maximum depth of sealer penetration into dentinal tubules and percentage of penetrated area were found in Group 100% ethanol, followed by 70% ethanol, paper points and wet groups. The results achieved by 100% ethanol were significantly higher than 70% ethanol, except for intensity of rhodamine B in cervical third.

Furthermore, the paper points results were better than wet group, except for intensity of rhodamine B in apical third. After analyzing the results presented in the two chapters, it was verified that ethanol solutions (70% and 100%) provide better wettability of AH Plus sealer on dentin surface. Similarly, ethanol solutions, especially at 100% concentration, improve the penetration of the sealer into dentinal tubules.

Keywords:

Ethanol, Dentin, Root Canal Obturation

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULOS	3
Capítulo 1: Evaluation of different ethanol concentrations on the dentin surface roughness, surface free energy, and interaction between AH Plus and root canal dentin	4
Capítulo 2: Effect of different ethanol concentrations on endodontic sealer penetration into dentinal tubules: a Confocal Laser Scanning Microscopy study	15
CONSIDERAÇÕES GERAIS	29
CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
APÊNDICE	36
ANEXO	
Envio do artigo para o periódico Journal of Endodontics.	44

INTRODUÇÃO

A busca pelo completo preenchimento do sistema de canais radiculares faz parte dos principais fatores relacionados ao sucesso do tratamento endodôntico (Hülsmann *et al.*, 2005), pois a presença de material obturador nas irregularidades anatômicas e ramificações do canal principal impedirá o ingresso de novos microrganismos para o interior da cavidade endodôntica (Saunders & Saunders, 1994; Buckley & Spangberg, 1995; Ray & Trope, 1995; Epley *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2000). De acordo com os princípios propostos por Schilder (1967), a obturação tridimensional do sistema de canais radiculares deveria ser alcançada com a interação apropriada entre a parede dentinária e o material obturador. Logo, a busca por técnicas e protocolos capazes de favorecer este contato tem se tornado uma constante dentro dos estudos da terapia endodôntica.

Diversas soluções e substâncias químicas são utilizadas durante as etapas do tratamento endodôntico. Algumas agem como antimicrobianos, eliminando os diferentes tipos de microrganismos presentes, tanto na luz do canal, quanto aderidos às paredes dentinárias (Krause *et al.*, 2007; Chávez de Paz *et al.*, 2010). Outras desempenham a importante função de remover partículas e detritos orgânicos e inorgânicos formados durante o preparo químico-mecânico (Lui *et al.*, 2007; Khedmat & Shokouhinejad, 2008; Prado *et al.*, 2011b). Estudos recentes direcionam esforços na avaliação da influência de soluções químicas que promovam um condicionamento da dentina capaz de oferecer melhor interação entre esta superfície e o cimento endodôntico (Prado *et al.*, 2011a; Pei *et al.*, 2012). Os resultados encontrados pelos mesmos mostraram alterações nas propriedades físico-químicas da dentina radicular (Prado *et al.* 2011a; Pei *et al.* 2012). Sendo assim, espera-se que tais modificações possibilitem maior distribuição do material obturador por toda a superfície dentinária.

A molhabilidade é uma propriedade termodinâmica que nos mostra a tendência de um determinado fluido espalhar ou aderir sobre uma superfície sólida e, pode estar diretamente relacionada à rugosidade superficial (Hu *et al.*, 2010) e à energia livre de superfície (Prado *et al.*, 2011a). A análise desta propriedade é feita por meio do ângulo de

contato formado entre a fase sólido/líquido, sendo estabelecida uma relação inversamente proporcional entre o valor deste ângulo e a molhabilidade.

O uso do etanol tem se mostrado eficaz no tratamento da dentina previamente à realização dos procedimentos obturadores aumentando a penetração do cimento endodôntico na paredes dentinárias (Stevens *et al.*, 2006). Imaginava-se inicialmente, que utilizando-se essa substância, a desidratação da superfície dentinária (Rosales *et al.*, 1999) promoveria uma melhora do escoamento do cimento, e conseqüentemente, melhora da penetração do material obturador por todos os espaços vazios. Entretanto, na literatura não existem muitos estudos comprobatórios dessa situação, e nem estudos que expliquem com clareza os mecanismos de mudanças nas propriedades físico-químicas da dentina condicionada com essa substância química.

Ao longo dos anos, o comportamento do material obturador dentro dos canais radiculares tem sido avaliado por diversas metodologias (Vassiliadis *et al.*, 1994; Calt & Serper, 1999; Kokkas *et al.*, 2004; Mamootil & Messer, 2007, Patel *et al.*, 2007, Moandi *et al.*, 2009). Quando se deseja verificar a penetração do cimento endodôntico no interior dos túbulos dentinários, a microscopia confocal de varredura a laser tem possibilitado uma avaliação mais detalhada de interação existente entre a superfície dentinária e o cimento (Ordinola-Zapata *et al.*, 2009; Moo *et al.*, 2010; Chandra *et al.*, 2012). Uma das principais vantagens oferecidas pela microscopia confocal refere-se à capacidade de análise em profundidade (Picoch *et al.*, 1998), o que possibilita a obtenção de uma série de imagens em diferentes planos. Cabe a nós, fazermos desta importante ferramenta, uma aliada na avaliação da máxima profundidade de penetração do cimento no interior dos túbulos dentinários, bem como, da porcentagem do perímetro das paredes cobertas pelo cimento.

Diante de todo o exposto, os objetivos deste trabalho foram: (1) verificar a influência do etanol na rugosidade, na energia livre de superfície da dentina radicular e na interação entre o cimento AH Plus e a superfície dentinária, (2) analisar por meio de microscopia confocal de varredura a laser os seguintes parâmetros: porcentagem do perímetro das paredes dos canais cobertas pelo cimento, máxima penetração do cimento no interior dos túbulos dentinários, porcentagem da área da dentina penetrada pelo cimento AH Plus e valor da intensidade do marcador fluorescente rodamina B.

CAPÍTULOS

Esta tese está baseada na resolução CCPG/02/06 UNICAMP que regulamenta o formato alternativo para teses de Mestrado e Doutorado. Dois capítulos contendo artigos científicos compõem este estudo, conforme descrito abaixo:

Capítulo 1

Evaluation of different ethanol concentrations on dentin surface roughness, surface free energy, and interaction between AH Plus and root canal dentin*

Capítulo 2

Effect of different ethanol concentrations on endodontic sealer penetration into dentinal tubules: a Confocal Laser Scanning Microscopy study

*Capítulo 1 submetido para publicação no Journal of Endodontics (anexo 1)

CAPÍTULO 1

Evaluation of different ethanol concentrations on the dentin surface roughness, surface free energy and interaction between AH Plus and root canal dentin

Carlos Augusto de Morais Souto Pantoja, DDS, MS, Caio Cezar Randi Ferraz, DDS, MS, PhD, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, DDS, MS, PhD, Alexandre Augusto Zaia, DDS, MS, PhD José Flávio Affonso de Almeida, DDS, MS, PhD

Department of Restorative Dentistry, Endodontic Division, Piracicaba Dental School, University of Campinas, Piracicaba, Brazil

Corresponding author:

José Flávio Affonso de Almeida

Assistant Professor, Department of Restorative Dentistry, Endodontic Division

Piracicaba Dental School, P.O. BOX 52

University of Campinas -UNICAMP

13414-903, Piracicaba, SP, Brazil

Phone: + 55 19 21065344

E-mail: jfalmeida@fop.unicamp.br

Acknowledgements

The authors deny any conflict of interest in this study. This study was supported by CAPES.

Abstract

Introduction: The aim of this study was to evaluate the influence of different ethanol concentrations on dentin roughness, surface free energy and contact angle between AH Plus and root canal dentin. **Methods:** One hundred human maxillary anterior teeth were split longitudinally and 200 dentin specimens were polished to leave the surface flatter and smoother. The specimens were removed from the mold and cleaned in an ultrasonic bath for 10 minutes. After this procedure, the dentin specimens were divided into 4 groups (n = 50) according to the drying methods used: (G1) wet: vaccum only, (G2) paper points: vaccum + absorbent paper points, (G3) 70% alcohol: 70% alcohol (1 min) + vaccum + absorbent paper points and (G4) 100% alcohol group: 100% alcohol (1 min) + vaccum + absorbent paper points. A rugosimeter and goniometer were used to verify the roughness (Ra) and to measure the surface free energy and the contact angle between AH Plus and root canal dentin. Statistical analysis was performed by ANOVA and Tukey tests ($\alpha = 0.05$). **Results:** 70% and 100% ethanol groups showed significantly decreased roughness as well as increased surface free energy on root canal dentin when compared to wet and paper point groups. In addition, ethanol significantly diminished the contact angle between AH Plus and root canal dentin. **Conclusions:** Ethanol solution (70% and 100%) provides better wettability of AH Plus sealer on dentin surfaces.

Keywords: ethanol, roughness, surface free energy, contact angle, root canal dentin, drying method, wettability

Introduction

The aim of obturation is to provide a three-dimensional filling of the root canal system (1, 2), preventing bacteria ingress from the oral cavity and periradicular tissues (3–5). Filling materials might fill root canal wall irregularities, apical ramifications and dentinal tubules (6, 7) and entomb irritants that were not removed during chemomechanical preparation (8, 9). Thus, physicochemical properties of filling material and dentin wall characteristics may affect root canal sealing (10, 11) and treatment outcomes.

Wettability is an important thermomechanical property (12), which represents the interactions between solids and liquids. It is strongly dependent on dentin roughness (13) and surface free energy (14). The surface with a lower contact angle (greater surface free energy) presents high wettability. On solids with high surface free energy, the sealer spreads and interacts better with this surface, forming a low contact angle (15, 16).

Surface wetting can be affected by altering the sealer and/or the dentin surface activity; ethanol has the ability to alter this property. Osório et al. (17) and Pei et al. (18) evaluated the effects of ethanol on dentin surfaces and found that this solution decreased dentin roughness and might have potential benefits in the root dentin bonding with a hydrophobic adhesive. Moreover, Stevens et al. (19) investigate the penetration of endodontic sealer into smear layer-free dentinal tubules following a final rinse of 95% ethyl alcohol and showed an increased sealer penetration.

The additional ethanol application step was previously proposed in endodontics to dehydrate the root canal before filling it with gutta-percha and to completely dry the root canal to evaluate the sealer coverage (19, 20). It is suggested that this solution may enhance the sealer penetration into dentinal tubules, favoring elimination of residual microorganisms present in these areas, preventing bacterial microleakage and improving the longevity bond strength. However, further investigation is needed to evaluate the physicochemical properties of the dentinal surfaces after ethanol application. Therefore, the aim of this study was to evaluate the influence of different ethanol concentrations on the roughness, surface free energy and contact angle between AH Plus and root canal dentin.

Material and Methods

Specimen Preparation

One hundred recently extracted human maxillary anterior teeth were selected. The teeth were cleaned with an ultrasonic scaler, washed with saline solution and then stored in 0.2% timol at 4°C. The crowns were removed using a 0.3-mm Microtome Saw (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL) and the remaining roots were split longitudinally with a rotary Diamond Disk 7020 (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brazil) at low speed under coolant water (Fig. 1A and B).

Two hundred dentin specimens were achieved. The samples were polished with wet 180-, 400-, 600-, 1200- and 2400-grit silicon carbide (SiC) abrasive paper (Carbimet Disc Set, no. 305178180, Buehler UK) in order to leave the surface flatter and smoother (Fig. 1C). Two specimens were randomly selected and fixed in wax and an acrylic bar (4 mm x 4 mm x 20 mm) was positioned between halves to simulate the volume similar to the one used clinically (Fig. 1D). The specimens were embedded in a silicone impression material (Speedex – Vigodent SA Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.) (Fig. 1E) and after setting time, the acrylic bar and excess material were removed (Fig. 1F). The whole outer surface of the impression material was covered with white sealing tape to prevent the passage of any chemical solution used during analysis (Fig. 1G).

Specimens were removed from the mold, cleaned in an ultrasonic bath with distilled water for 10 minutes and then irrigated with 5 mL of saline solution, followed by 17% EDTA for 3 minutes. A final rinse was performed with 5 mL of saline solution. After cleaning procedures, the specimens were reinserted into the mold and randomly divided into 4 groups (n=50) according to drying methods: G1 – wet: root canals were only dried with a 0.014 capillary tip vacuum adapter for 5 seconds (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT); G2 – paper points: root canals were dried with a 0.014 capillary tip vacuum adapter for 5 seconds, followed by 2 absorbent paper points (Endo Points Industrial Amazônica, Manacapuru, AM, Brazil); G3 – 70% alcohol: canals were filled with 70% alcohol using a 5 mL disposable plastic syringe with a 0.55 x 20 mm (24G) needle (BD – Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil.) inserted 2 mm short of the working length. After 1 min, the alcohol solution was removed with a 0.014 capillary tip vacuum

adapter for 5 seconds and 2 absorbent paper points; G4 – 100% alcohol: the same procedure for G3 was performed using 100% alcohol. Finally, the specimens were taken to the rugosimeter and goniometer for evaluation of the roughness, surface free energy and contact angle formed between AH Plus and root canal dentin surface.

Roughness

Forty specimens were individually positioned in a Surfcoorder SE 1700 profilometer (Kosaka Lab, Tokyo, Japan) to verify the roughness (Ra) of root canal dentin submitted to drying methods. Three readings were made on each surface using a stylus tip (0.5 μm in diameter). The extension of each reading was 1.25 mm, using a cut-off of 0.25 mm. The mean and standard deviation of Ra were determined. Ra parameter describes the overall roughness of a surface and can be defined as the arithmetical average value of all absolute distances of the roughness profile from the centerline within the measuring length.

Surface Free Energy

A Ramé-hart goniometer (Ramé-hart Instrument Co., Netcong, NJ, USA) was used to measure the contact angle among the following solutions: water (polar), bromonaphthalene (apolar), and formamide (polar). The solutions were used to determine the dispersive and polar components and the total free energy by means Ramé-hart DROP Image Standard software (Ramé-hart Instrument Co., Netcong, NJ, USA). One hundred and twenty samples were used: 30 samples per group and 10 samples per solution. In each sample, 1 drop of liquid (15 μL) was measured and in each drop, and 30 measurements were made.

Contact Angle

A Ramé-hart goniometer was used to measure the contact angle between dried dentin surfaces and AH Plus (Dentsply, Petropolis, RJ, Brazil). The sealer was manipulated according to the manufacturer. A total of 40 samples were used (10 samples per group). A sealer drop (15 μL) was placed on dentin surfaces with a BD ultrafine syringe of 0.5 mL (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) and 30 measurements were made in each drop.

Data Analysis

Since the normality assumptions of the data were valid, the data were analyzed with one-way analyses of variance (ANOVA) and Tukey tests, with statistical significance pre-set at $\alpha = 0.05$.

Results

Seventy percent and one hundred percent ethanol solution showed significantly decreased roughness as well as significantly increased surface free energy on root canal dentin, when compared to wet and paper points groups (Figures 2A and 2B). There was no difference between different ethanol concentrations or between wet and paper point groups.

Lower contact angles between AH Plus and dentin surface were achieved on surfaces dehydrated by 70% and 100% ethanol (Fig. 2C). No significant difference was found between ethanol concentrations or between wet and paper points groups.

Discussion

All measurements performed in the present study were standardized by using a controlled volume (15 μL) of each solution and AH Plus. It is known that volumetric change can affect the value of contact angle (21, 22). In addition, the entire experimental procedure was performed under standard environmental conditions, considering that the surface tension coefficient of liquids is influenced by temperature change and humidity (23).

Wettability is defined as the ability of a liquid to spread on a solid surface. It may give an idea of the potential of interaction between this liquid and the dentin substrate. This property is dependent of roughness and surface free energy and could be evaluated by contact angle formed between liquid and solid (24). By atomic force microscopy (AFM), Pei et al. (2012) found lower values of dentin roughness treated with a stepwise ethanol application protocol, when compared to water-wet dentin. Our results corroborate with these previous studies and showed a decrease in roughness and an increase of surface free energy on samples dehydrated with ethanol solutions (100% and 70%). These results can be explained by the ability of ethanol solutions to promote a chemical dehydration of

demineralized collagen fibres and contraction of dentin collagen network diameters (17). Pei et al. (18) assert that ethanol solution may reduce the intrinsic wetness of the root dentin. It is suggested that in the absence of moisture, some materials with hydrophobic nature, such as AH Plus, may improve flow into the lateral canals and dentinal tubules.

Contact angle values formed between the AH Plus sealer and dentin surface were lower, when compared with wet and paper point groups. The values found were lower than 80.51 degrees for all groups. When the contact angle is less than 90 degrees, the liquid wets the substrate. If it is greater than 90 degrees, it is said to be nonwetting. A zero contact angle represents complete wetting. Low contact angle values are associated with an enhanced interaction between a solid surface and a liquid—in this case, the endodontic sealer (25). Thus, it could be suggested that the ethanol-drying method can facilitate sealer penetration and three-dimensional root canal fillings.

Taken together, the results showed that 70% and 100% ethanol can provide better wettability of AH Plus sealer on dentin surface, diminishing AH Plus contact angles and favoring the interaction between this sealer and root canal dentin. Further studies should be performed to evaluate if ethanol solutions could enhance endodontic sealer penetration into the dentinal tubules.

References

1. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. *Dent Clin North Am* 1967;723–74.
2. Hülsmann M, Peters OA, Dummer PMH. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endodontic Topics* 2005;10:30–76.
3. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* 1994;10:105–8.
4. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J* 1995;28:12–8.

5. Buckley M, Spangberg L. The prevalence and technical quality of endodontic treatment in an American subpopulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;79:92–100.
6. Wu MK, Van B, Wesselink PR. Diminished leakage along root canals filled with gutta percha without sealer over time: a laboratory study. *Int Endod J* 2000;33:121–5.
7. Epley SR, Fleischman J, Hartwell G, Cicalese C. Completeness of root canal obturations: Epiphany techniques versus gutta-percha techniques. *J Endod* 2006;32(6):541-4.
8. Heling I, Chandler NP. The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. *J Endod* 1996;22:257–9.
9. Kokkas AB, Boutsoukis ACh, Vassiliadis LP, Stavrianos CK. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod* 2004;30:100–2.
10. Nagas E, Uyanik MO, Eymirli A, Cehreli ZC, Vallittu PK, Lassila LV, Durmaz V. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. *J Endod* 2012;38(2):240-4.
11. Zmener O, Pameijer CH, Serrano SA, Vidueira M, Macchi RL. Significance of moist root canal dentin with the use of methacrylate-based endodontic sealers: an in vitro coronal dye leakage study. *J Endod* 2008;34:76–9.
12. Hu X, Ling J, Gao Y. Effects of irrigation solutions on dentin wettability and roughness. *J Endod* 2010;36:1064–7.
13. Rosales JI, Marshall GW, Marshall SJ, et al. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. *J Dent Res* 1999;78:1554–9.
14. Duncan-Hewitt W. Hydrophobic surfaces. In: Doyle R, Rosenberg M, eds. *Microbial cell surface hydrophobicity*. Washington, DC: American Society for Microbiology Press 1990;39–73.
15. Milosevic A. The influence of surface finish and in-vitro pellicle on contact-angle measurement and surface morphology of three commercially available composite restoratives. *J Oral Rehabil* 1992;19:85–97.

16. Kontakiotis EG, Tzanetakis GN, Loizides AL. A comparative study of contact angles of four different root canal sealers. *J Endod* 2007;33:299–302.
17. Osorio E, Toledano M, Aguilera FS, Tay FR, Osorio R. Ethanol wet-bonding technique sensitivity assessed by AFM. *Journal of Dental Research* 2010;89:1264–9.
18. Pei D, Huang X, Huang C, Wang Y, Ouyang X, Zhang J. Ethanol-wet bonding may improve root dentine bonding performance of hydrophobic adhesive. *J Dent* 2012;40(5):433-41.
19. Stevens RW, Strother JM, McClanahan SB. Leakage and sealer penetration in smear-free dentin after final rinse with 95% ethanol. *J Endod* 2006;32(8):785-8.
20. Wilcox LR, Wiemann AH. Effect of a final alcohol rinse on sealer coverage of obturated root canals. *J Endod* 1995;21:256–8.
21. Good RJ, Koo MN. The effect of drop size on contact angle. *J Colloid Interface Sci* 1979;71:283.
22. Vafaei S, Podowski MZ. Analysis of the relationship between liquid droplet size and contact angle. *Adv Colloid Interface Sci* 2005;113:133–46.
23. Newmann AW. Contact angles and their temperature dependence. *Adv Colloid Interface Sci* 1974;4:105–91.
24. Rosales JI, Marshall GW, Marshall SJ, et al. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. *J Dent Res* 1999;78:1554–9.
25. Kontakiotis EG, Tzanetakis GN, Loizides AL. A comparative study of contact angles of four different root canal sealers. *J Endod* 2007;33:299–302.

FIGURES

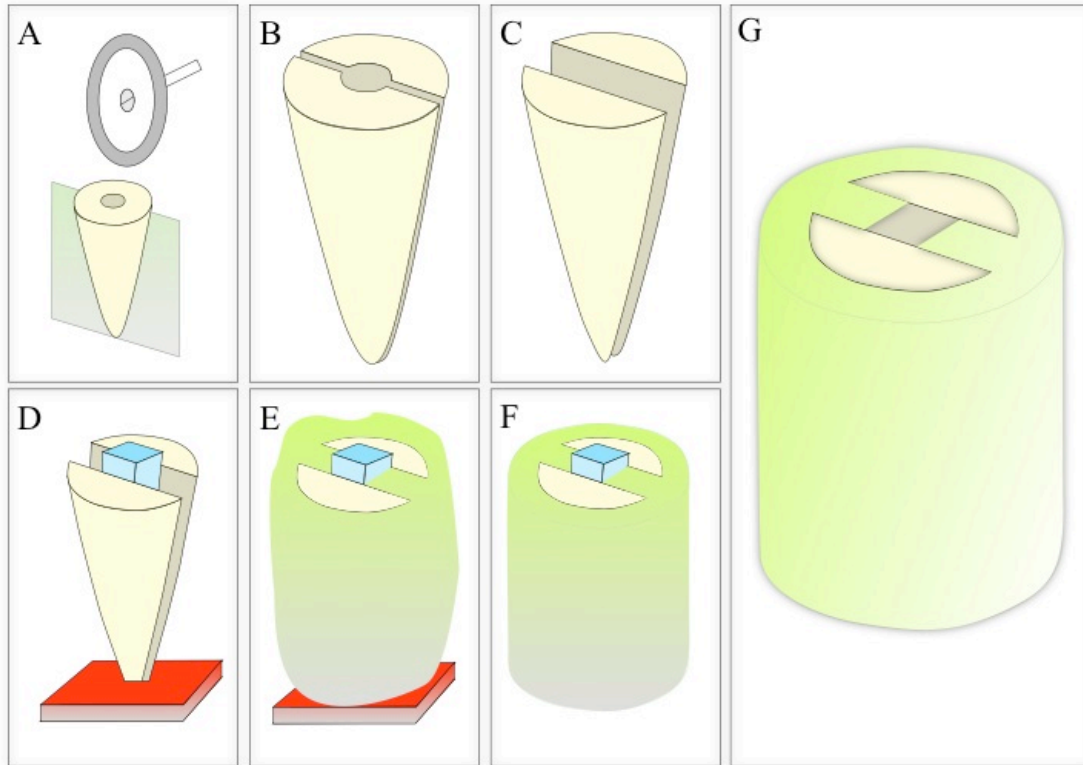


Figure 1. Representative design of dentin samples preparation in impression material. A. Longitudinal section of root with a rotary diamond disk; B. Dentin samples; C. Polished samples; D. Fixed samples between acrylic bar; E. Preparation and placement of impression material around samples.; F. Removal impression material excess, wax and acrylic bar; G. Final samples embedded in impression material and covered with white sealing tape.

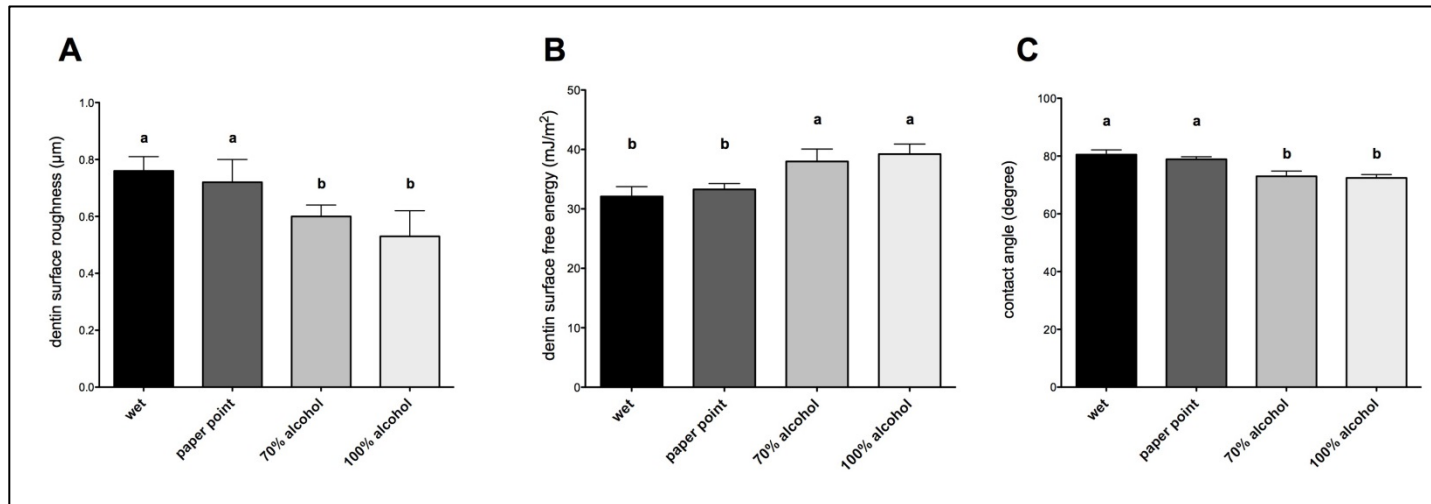


Figure 2. Dentin surface physicochemical properties and interaction between AH Plus and dehydrated dentin surface. A. Dentin surface roughness; B. Dentin surface free energy; C. Contact angle between AH Plus and root canal surface.

CAPÍTULO 2

Effect of ethanol-dried dentin on endodontic sealer penetration into dentinal tubules: a Confocal Laser Scanning Microscopy study

Carlos Augusto de Moraes Souto Pantoja, DDS, MS, Caio Cezar Randi Ferraz, DDS, MS, PhD, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, DDS, MS, PhD, Alexandre Augusto Zaia, DDS, MS, PhD José Flávio Affonso de Almeida, DDS, MS, PhD

Department of Restorative Dentistry, Endodontics Division, Piracicaba Dental School, University of Campinas, Piracicaba, Brazil

Corresponding author:

José Flávio Affonso de Almeida

Assistant Professor, Department of Restorative Dentistry, Endodontic Division

Piracicaba Dental School, P.O. BOX 52

University of Campinas -UNICAMP

13414-903, Piracicaba, SP, Brazil

Phone: + 55 19 21065344

E-mail: jfalmeida@fop.unicamp.br

Acknowledgements

The authors deny any conflict of interest in this study. This study was supported by CAPES.

Abstract

Introduction: The aim of this study was to evaluate the effect of ethanol-dried dentin on endodontic sealer penetration into dentinal tubules through confocal laser scanning microscopy. **Methods:** Forty human maxillary anterior teeth were used. The samples were instrumented and divided into 4 groups (n = 10) according to the drying methods: 1) wet: vaccum only (2) paper points: vaccum + absorbent paper points, (3) 70% alcohol: 70% alcohol (1min) + vaccum + absorbent paper points and (4) 100% alcohol group: 100% alcohol (1min) + vaccum + absorbent paper points. All root canals were filled using the Schilder technique with gutta-percha and AH Plus labeled with Rhodamine B. Four cross-sections were performed in each radicular third (cervical, middle and apical) and examined by using confocal laser scanning microscopy. Percentage of root canal wall coverage, maximum depth of sealer penetration, percentage of penetrated area and the intensity of rhodamine B were measured. Statistical analysis was performed by Analysis of Variance and the Tukey test ($\alpha = 0.05$). **Results:** No statistical difference was found when percentage of root canal wall coverage were compared. Otherwise, groups in which alcohol solutions were used presented the higher depth of sealer penetration, percentage of penetrated area, as well as intensity of Rhodamine B ($p < 0.05$) when compared with wet and paper point groups. Overall, 100% ethanol achieved better results than 70% ethanol, except for intensity of Rhodamine B (cervical third). In addition, absorbent paper point drying method performed better than wet root canals, except for intensity of Rhodamine B (apical third). **Conclusion:** Ethanol solutions used during root canal wall drying procedures improved AH Plus dentinal tubules penetration, especially 100% ethanol.

Keywords

Ethanol, confocal microscopy, root canal dentin, drying method, dentinal tubules, endodontic sealer

Introduction

Bacteria causing persistent infections are usually located in areas unaffected by instruments and antimicrobial substances, including complex anatomy of the root canal system and especially into the dentinal tubules (Ricucci et al. 2009; Ricucci & Siqueira, 2010). Sealer penetration in these spaces is considered to be a desirable outcome. In addition to the antibacterial effect, sealer can penetrate into dentinal tubules entombing residual bacteria (Heling & Chandler, 1996; Kokkas et al. 2004). However, many factors may influence the filling material penetration, such as sealer physicochemical properties (Tuncer & Tuncer, 2012), filling techniques and different levels of residual moisture in the root canal (Zmener et al. 2008). Clinicians should know these characteristics and try to establish a protocol that can promote higher percentage and maximum depth sealer penetration into the dentinal tubules (Gibby et al. 2011).

Final irrigation of root canals with different chemical solutions has been proposed by many researchers (Moon et al. 2010; Tuncer & Tuncer, 2012) in an attempt to improve dentinal tubules sealer penetration. For many years, drying the dentin walls prior to filling procedures has been carried out with vacuum cleaner tips and absorbent paper points. Ethanol solution is a dehydrating agent (Rosales et al. 1999) that has been tested to improve dentin wettability and increase sealer penetration along the root canal walls (Stevens et al. 2006). Our group could demonstrate that 70% and 100% ethanol drying methods increased dentin wettability and improved the interaction between AH Plus and dentin root canal walls (data not published). These results suggest that different ethanol concentrations could enhance sealer penetration into dentinal tubules, favor residual microorganisms elimination present in these areas, prevent bacterial microleakage and improve the longevity of bond strength, corroborating with better endodontic treatment outcomes.

Hence, the aim of this study was to evaluate the effect of ethanol-dried dentin on endodontic sealer penetration into dentinal tubules through confocal laser scanning microscopy.

Methods and Materials

Specimen Preparation

Forty recently extracted human maxillary anterior teeth were selected. The teeth were cleaned with an ultrasonic scaler and washed with saline solution. Preoperative mesiodistal and buccolingual radiographs were taken to ensure the presence of a single root canal. The teeth were stored in 0.2% timol solution at 4°C. The crowns were removed using a 0.3-mm microtome saw (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL) to standardize root in 18-mm length. The canals were accessed, and the working length (WL) established. All canals were instrumented with crown-down technique using rotary nickel-titanium K3 files (SybronEndo, Glendora, CA) according to the guidelines for instrumentation “Procedure pack” (11). The canals were prepared up to apical size 25/.06. After each instrument, canals were irrigated with 5 mL of saline solution and filled with 2% chlorhexidine gel, as an auxiliary chemical substance (Endogel, Essencial Farma – Itapetininga, SP, Brazil). Apical patency was maintained by passing # 15 K-file (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland), through the apical foramen between files. Then, canals were irrigated with 3mL of 17% ethylenediaminetetracetic acid for 3 minutes, followed by final rinse with 5mL of saline solution. All irrigation solutions and auxiliary chemical substance were introduced into the root canal using a 5 mL disposable plastic syringe (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT) and a 20 x 0.55mm (24 G) needle (Becton Dickinson (BD) – Curitiba, Brazil.) inserted up to a depth 2 mm shorter to the working length.

The samples were randomly divided into 4 groups (n=10) according to drying methods: G1 – wet: root canals were only dried with a 0.014 capillary tip vacuum adapter for 5 seconds (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT). G2 – paper points: root canals were dried with a 0.014 capillary tip vacuum adapter for 5 seconds, followed by 2 absorbent paper points (Endo Points Industrial Amazônica, Manacapuru, AM, Brazil); G3 – 70% alcohol: canals were filled with 70% alcohol using a 5 mL disposable plastic syringe (Ultradent Products Inc, South Jordan, UT) with 20 x 0.55mm (24 G) needle inserted 2 mm shorter to the working length. After 1 min, the alcohol solution was removed with a 0.014 capillary tip vacuum adapter for 5 seconds and 2 paper points; G4 – 100% alcohol: the

same procedure of G3 was performed using 100% alcohol. Then, the canals were obturated with AH Plus (Dentsply – Konstanz, Germany) and Autofit gutta-percha cones (Analytic Endodontics, Orange, CA, USA) using the Schilder technique. The sealer was labeled with 0.1% fluorescent rhodamine B (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) according Ordinola-Zapata et al. (2008) for analysis under Confocal Laser Scanning Microscopy CLSM (Leica Microsystems GmbH, Mannheim, Germany). The respective absorption and emission wavelengths for rhodamine B were 540 nm and 590 nm. Dentin samples were analyzed using $\times 5$ lens. The images were obtained in a format of 1,024 \times 1,024 pixels and acquired using the Leica Microsystems software (LAS-AF, Leica, Mannheim, Germany). Radiographs were exposed from facial and proximal surfaces to ensure that no voids were present. The access cavities were sealed with intermediate restorative material (Coltosol, Vigodent / Coltene – RJ, Brazil). The teeth were stored in an incubator at 37°C and 100% relative humidity for 24 hours to allow sealers to set.

CLSM analysis

The roots were sectioned perpendicularly (1mm thick) using a 0.3 mm Isomet saw (Buehler Isomet) at 350 rpm and continuous water cooling to prevent frictional heat, with a slow-speed water-cooled 0.3-mm microtome saw. Four horizontal sections were done at 2, 6 and 10 mm from the apical foramen. After sectioning, gutta-percha was removed from root canal with aid of dental explorer. The sections were polished manually with wet 180-, 400-, 600-, 1200- and 2400-grit silicon carbide (SiC) abrasive paper (Carbimet Disc Set, no. 305178180, Buehler UK). For each abrasive papers, the sections were polished during 1 minute. The specimens were mounted onto glass slides and examined with CLSM. Six images from each section were recorded (Fig 1A), merged and exported to the Image J software (Fig 1B). The final section image was evaluated by four different dentinal tubules sealer penetration analysis.

Percentage of root canal wall coverage

In each section image, the circumference of the root canal wall was outlined and the perimeter was measured with the Image J software measuring tool (Fig 1C). Then, areas

along the canal walls in which the sealer penetrated into dentinal tubules were outlined and measured using the same method (Fig 1D). The outlined distances were divided by the canal circumference to calculate the percentage of each canal wall area covered by sealer in that section.

Maximum depth of sealer penetration

The depth of sealer penetration into the dentinal tubules was measured at four standardized points on each image according to Bitter et al. 2004 and Gharib et al. 2007 (Fig 1E). The canal wall was the starting point and maximum depth of sealer penetration into dentinal tubules (Fig. 1F) was averaged for each section.

Percentage of penetrated area

The limits of each section and root canal wall were outlined and the area were measured with the Image J software measuring tool (Fig 1G). Areas along the dentin in which the sealer penetrated into dentinal tubules were also outlined and measured using the same method (Fig 1H). Total area penetrated with sealer was divided by the dentin wall area to calculate the percentage of penetrated area.

Intensity of rhodamine B in dentinal tubules

In each section of the images, the dentin area was outlined and the intensity of rhodamine B (Fig. 1I) was determined. Then, intensity of Rhodamine B from each section was summed and the overall value was calculated.

Statistical Analysis

Since the normality assumptions of the data were valid, the data were analyzed with one-way analyses of variance (ANOVA) and Tukey test, with statistical significance pre-set at $\alpha= 0.05$.

Results

Sealer penetration occurred on each side of root canal wall, resulting in similar statistical root canal coverage in all groups and root canal thirds (Figure 2A). On the other hand, 100% ethanol presented higher depth sealer penetration (Figure 2B), percentage of penetrated area (Figure 2C), as well as intensity of Rhodamine B (Figure 2D), followed by 70% ethanol, paper point and wet ($p < 0.05$). The only two exceptions were similarity between 100% and 70% ethanol groups (cervical third) and absorbent paper point and wet groups (apical third) for intensity of Rhodamine B ($p > 0.05$). Figure 3 shows representative patterns of sealer penetration into dentinal tubules in all experimental groups and root canal thirds.

Discussion

The sealer-dentin interaction has been a matter of extensive research in the past years and may be related to several factors, such as, physicochemical properties of the sealer, filling techniques and moisture conditions of the dentin wall before filling procedures. Several studies showed that the ability of sealer penetration may contribute to improve sealer antibacterial activity killing and entombing bacteria that remain into dentinal tubules (Heling, 1996; Kokkas et al. 2004).

The scanning electron microscopy (SEM) has been widely used to evaluate sealer penetration into the dentinal tubules (Vassiliadis et al. 1994; Calt & Serper, 1999; Kokkas et al. 2004; Mamootil & Messer, 2007, Morandi et al. 2009). SEM micrographs allow observation of the dentinal tubules and accurate measurement of the depth sealer penetration with a high magnification (Patel et al. 2007). Although this technique may be advantageous, some requirements need to be analyzed such as, producing artifacts during the preparation of the specimens and inability to obtain a detailed overall view at low magnification (Mamootil & Messer, 2007). Recently, studies have showed the benefits of CLSM in the assessment of sealer penetration into the dentinal tubules (Patel et al. 2007; Gharib et al. 2007; Ordinola-Zapata et al, 2009; Chandra et al. 2012). Background information away from the focal plane enables the acquisition of images with fewer artifacts (Picoch et al. 1998). Another advantage of CLSM is related to control depth of

field, which allows to obtain excellent images in different planes. In this study, the CLSM images allowed detail visualization of sealer penetration into the dentinal tubules and measurement of the percentage of area penetrated with sealer on each root canal third. The CLSM provided intensity values of rhodamine B in each dentin sample, which could suggest that higher intensity of rhodamine B is related to greater sealer volume in dentinal tubules. The evaluation parameters percentage of area penetrated with sealer on each root canal third and intensity of rhodamine B were established to analyze with more detail the sealer behavior into dentinal tubules.

Many studies (Tuncer & Tuncer, 2012; Moon et al., 2010; Chandra et al., 2012) that evaluated the effect of different solution used for final rinse demonstrated that root canal cervical third presented significant higher percentage of root canal wall coverage perimeter percentage and maximum depth of sealer penetration when compared to middle and apical third. However, the quantity, volume and orientation of the dentinal tubules on each radicular third are different. Root dentin is not uniformly mineralized and the density or number of dentinal tubules increase in an apical-coronal direction to the root surface (Mjör et al., 2001). Apical dentin is more frequently sclerosed and the tubules are irregular in number and can not be observed in some areas (Vassiliadis et al. ,1994). Thereby, root canal thirds were not compared in this study because establishing comparisons among them could not be reliable and would not bring any important information regarding sealer penetration.

Root canal perimeter in which the endodontic sealer could penetrate into the dentinal tubules has been analysed and found differences after several final rinse regimens (Moon et al. 2010; Tuncer & Tuncer, 2012) or sealers (Marciano et al. 2011). Our results did not show any difference among groups when root canal wall coverages were compared. Albeit different evaluation technique were used, same results of root canal coverage were achieved after a final rinse with 95% ethanol prior to obturation (Wilcox & Wiemann, 1995). Although our previous study showed that ethanol can improve root canal surface wettability, an adequate sealer placement and/or a good filling technique could overcome any difference of surface substrates. An uniform sealer coverage can occur even when different sealer penetration into dentinal tubules are found. This emphasizes that dentinal

tubule sealer penetration would be better evaluated by maximum depth of sealer penetration, percentage of sealer penetrated area or intensity of fluorescent dye.

These methodologies showed better results when ethanol solution was used to dehydrate root canal prior to the filling technique. Stevens et al. (2006) also reported that a final rinse with 95% ethyl alcohol produced significantly deeper sealer penetration than NaOCl solution. The ethanol is generally considered to be a dehydrating medium (21), which removes the water residing among the collagen fibrils (Pei et al. 2012) and dentinal tubules (22). The reduction of root dentin wetness improved, in our previous study, the wettability of dentin surface and could do the same on inner surfaces of dentinal tubules. Therefore, the decrease of wetting ability of dentinal wall or tubules may further the adhesion (24) or penetration of materials with hydrophobic nature, as AH Plus.

Thus, a 1 minute final rinse with 100% ethanol seems to be a good drying method that can improve dentinal tubule sealer penetration, favors residual microorganism elimination present in these areas, prevents bacterial microleakage and improves the longevity bond strength, corroborate with better endodontic treatment outcomes.

References

1. Calt S, Serper A. Dentinal tubule penetration of root canal sealers after root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25:431–3.
2. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: confocal microscopic study. *J Endod*. 2012;38(10):1412-6.
3. Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. *J Endod* 2007;33: 957–61.
4. Gibby SG, Wong Y, Kulild JC, Williams KB, Yao X, Walker MP. Novel methodology to evaluate the effect of residual moisture on epoxy resin sealer/dentine interface: a pilot study. *Int Endod J* 2011;44:236–44.
5. Heling I, Chandler NP. The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. *J Endod* 1996;22:257–9.

6. Kara Tuncer A, Tuncer S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. *J Endod.* 2012;38(6):860-3.
7. Kokkas AB, Boutsoukias ACh, Vassiliadis LP, Stavrianos CK. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod* 2004;30:100–2
8. Mamootil K, Messer HH. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *Int Endod J* 2007;40:873–81.
9. Marciano MA, Guimarães BM, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Cavenago BC, Garcia RB, Bernardineli N, Andrade FB, Moraes IG, Duarte MA. Physical properties and interfacial adaptation of three epoxy resin-based sealers. *J Endod.* 2011;37(10):1417-21.
10. Mjör IA, Smith MR, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *Int Endod J.* 2001 Jul;34(5):346-53.
11. Moon YM, Shon WJ, Baek SH, Bae KS, Kum KY, Lee W. Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. *J Endod.* 2010;36(4):732-6.
12. Moradi S, Ghoddusi J, Forghani M. Evaluation of dentinal tubule penetration after the use of dentin bonding agent as a root canal sealer. *J Endod* 2009;35:1563–6.
13. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MS, et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:450–7.
14. Patel DV, Sherriff M, Ford TR, Watson TF, Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Int Endod J* 2007;40:67–71.
15. Pei D, Huang X, Huang C, Wang Y, Ouyang X, Zhang J. Ethanol-wet bonding may improve root dentine bonding performance of hydrophobic adhesive. *J Dent.* 2012;40(5):433-41.

16. Pico T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent* 1998;11:202–6.
17. Ricucci D, Siqueira JF Jr, Bate AL, Pitt Ford TR. Histologic investigation of root canal- treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod* 2009;35:493–502.
18. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 2010;36:1277–88.
19. Rosales JI, Marshall GW, Marshall SJ, et al. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. *J Dent Res* 1999;78:1554 –9.
20. Stevens RW, Strother JM, McClanahan SB. Leakage and sealer penetration in smear-free dentin after a final rinse with 95% ethanol. *J Endod.* 2006; 32(8):785-8.
21. Vassiliadis LP, Sklavounos SA, Stavrianos CK. Depth of penetration and appearance of Grossman sealer in the dentinal tubules: an in vivo study. *J Endod* 1994;20: 373–6.
22. Wilcox LR, Wiemann AH. Effect of a final alcohol rinse on sealer coverage of obturated root canals. *J Endod* 1995;21, 256–8.
23. Zmener O, Pameijer CH, Serrano SA, Vidueira M, Macchi RL. Significance of moist root canal dentin with the use of methacrylate-based endodontic sealers: an in vitro coronal dye leakage study. *J Endod* 2008;34:76–9.

FIGURES

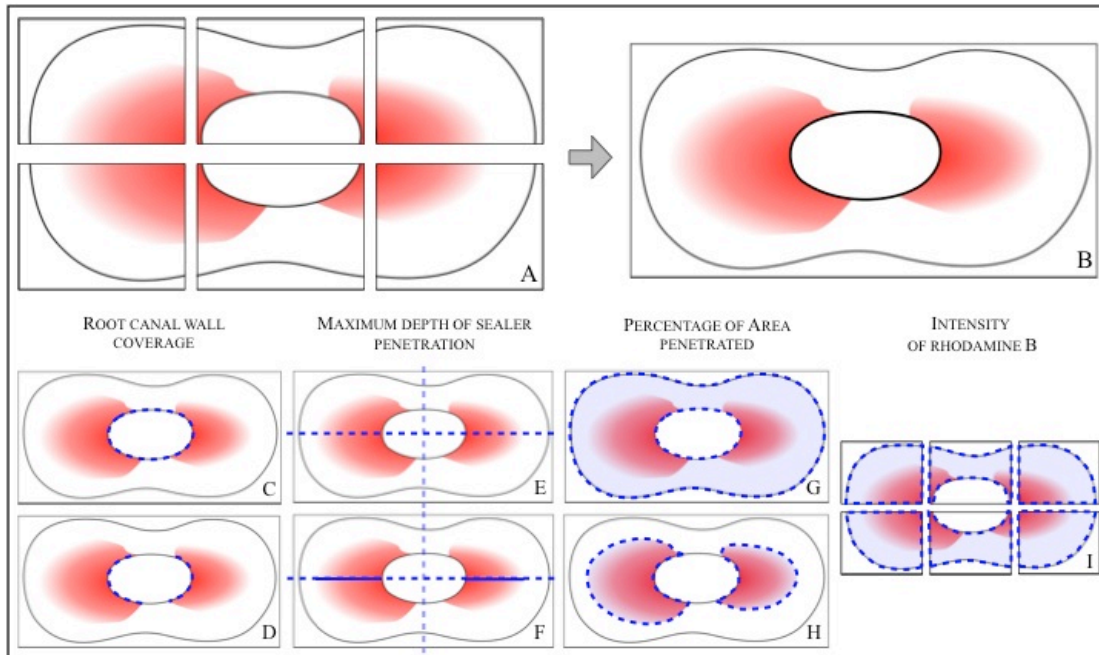


Figure 1. Design evaluation parameters of each radicular section. (A) Captured images in CLSM; (B) Merged image at Image J software; (C) Root canal wall perimeter; (D) Root canal wall perimeter covered by sealer; (E) Standardized four points on each image; (F) Maximum depth sealer penetration; (G) Area of each section; (H) Area penetrated with sealer and (I). Intensity values of rhodamine B.

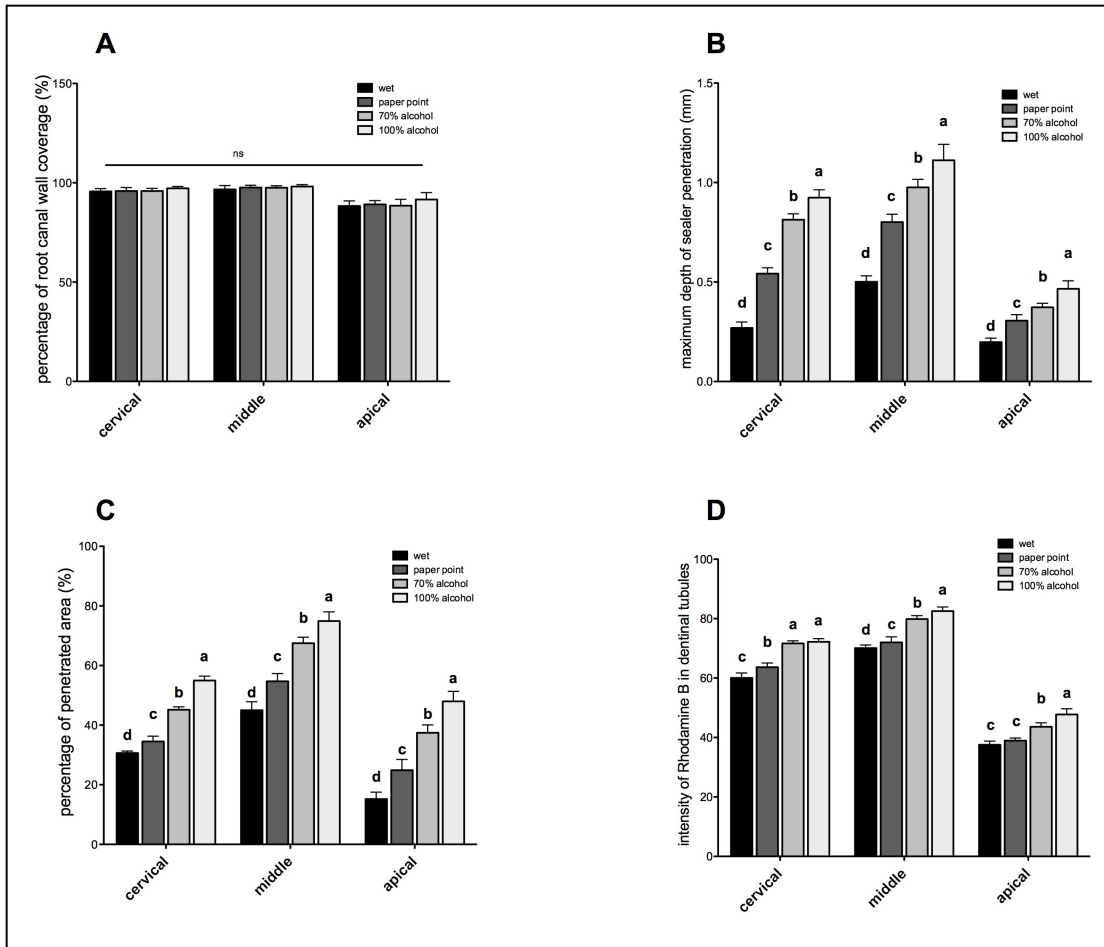


Figure 2. Representative graphics of evaluation parameters. A. Percentage of root canal wall covered; B. Maximum depth of sealer penetration; C. Percentage of penetrated area; D. Intensity of Rhodamine B in dentinal tubules.

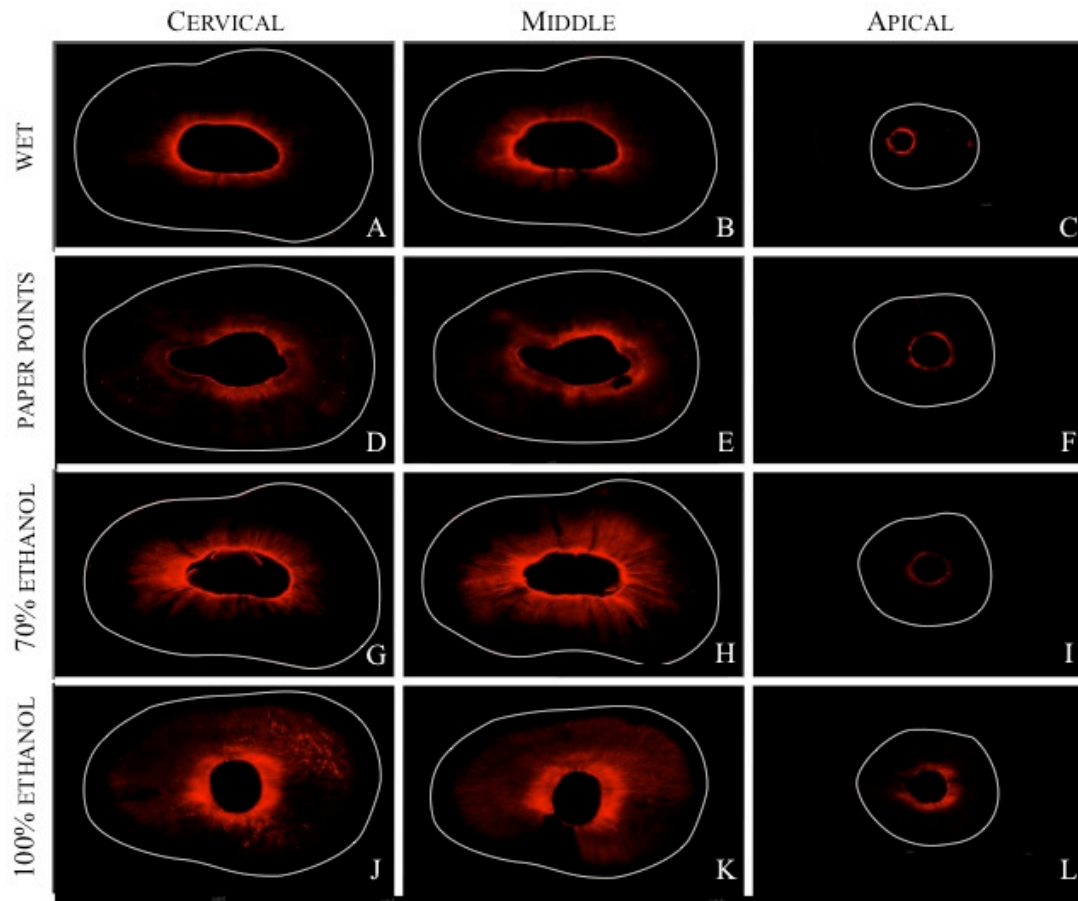


Figure 3. CLSM images according to dring methods and root canal thirds. (A – C) Wet group images showed lower penetration of sealer into dentinal tubules at all thirds; (D – F) Paper points group images with more penetration of sealer into dentinal tubules, than wet groups; (G – I) 70% ethanol group images showed better sealer penetration, when compared to wet and paper points group and (J – L) 100% ethanol group images presented a greater amount of sealer penetrated into dentinal tubules, especially at middle third.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Diante dos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que a irrigação dos canais radiculares com etanol nas concentrações de 70% e 100%, durante os procedimentos de secagem das paredes dentinárias, promoveu uma melhor interação do cimento endodôntico AH Plus com as paredes dentinárias. Diversos trabalhos revelam que esta solução pode alterar as propriedades termodinâmicas (Tay et al. 2007) e físicas da dentina (Pei et al. 2012). O etanol proporciona uma melhor molhabilidade do cimento na dentina radicular e altera as condições de umidade desta superfície, por meio da desidratação. No presente estudo, tais alterações possibilitaram uma maior profundidade de penetração do cimento AH Plus no interior dos túbulos dentinários. Desta forma, acredita-se que o etanol possa interferir significativamente na qualidade de preenchimento do sistema de canais radiculares.

Estudos laboratoriais revelam a influência de soluções químicas na superfície dentinária e destacam o uso destas substâncias como um dos principais fatores relacionados à qualidade final do tratamento endodôntico. Um dos principais exemplos, refere-se ao uso do EDTA 17% dentro do protocolo de limpeza final das paredes dentinárias (Lui *et al.*, 2007; Khedmat & Shokouhinejad, 2008; Prado *et al.*, 2011). De forma semelhante, outras soluções químicas foram sendo incorporadas ao longo dos anos na terapia endodôntica, tais como, o hipoclorito de sódio na eliminação dos microrganismos (Krause *et al.*, 2007; Chávez de Paz *et al.*, 2010). e, mais recentemente, o etanol nos procedimentos restauradores e obturadores (Osório et al. 2010; Pei et al. 2012). O objetivo maior do emprego destas substâncias relaciona-se ao preparo da superfície dentinária, capaz de oferecer melhor preenchimento e selamento dos canais radiculares, além da adesão dos materiais obturadores às paredes dos canais.

O presente estudo verificou que houve modificações das propriedades físico-químicas da superfície dentinária com o uso do etanol. Dentre elas pode-se citar a diminuição da rugosidade superficial e o aumento da energia livre de superfície. O etanol possivelmente agiu removendo moléculas de água presentes entre as fibras colágenas da

superfície dentinária, e alterando a estrutura destas fibras, por meio da redução do diâmetro das mesmas (Tay et al. 2007; Osório et al. 2010). Com isso pode-se dizer que provavelmente houve duas modificações estruturais na rede de fibras colágenas. A primeira delas, relaciona-se ao colapamento das fibras, que reduziu a rugosidade superficial da dentina (Capítulo 1). A outra, associa-se ao aumento do espaço interfibrilar, que anteriormente era ocupado por moléculas de água. Estes espaços passaram a ser preenchidos com cimento endodôntico AH Plus, o que justifica uma melhora na penetração do cimento para os grupos tratados com etanol (Capítulo 2).

A solução estudada, em ambas as concentrações (70% e 100%), foi capaz de aumentar a energia livre de superfície da dentina radicular, como descrito no Capítulo 1. De acordo com o conceito de energia livre de superfície, ou seja, força de atração superficial, pode-se afirmar que o etanol melhorou a interação entre o cimento AH Plus e a dentina radicular. Como consequência, o ângulo de contato formado entre o AH Plus e a superfície dentinária apresentou redução. Isto também foi comprovado no primeiro capítulo deste estudo. Em função destes dois resultados, houve uma melhora na molhabilidade deste material obturador na superfície dentinária, o que auxilia na explicação dos resultados obtidos no Capítulo 2.

A melhora na penetração do cimento, por todo o decorrido em relação as condições superficiais da dentina, associada à condição física de remoção da água presente no interior dos túbulos dentinários (Capítulo 2) aumentou a penetração do cimento no interior destes, o que nos permite concluir que houve uma melhora na qualidade da obturação do conduto.

Para a análise de penetração do cimento nos túbulos dentinários utilizou-se microscopia confocal de varredura a laser (MCVL), assim como diversos trabalhos anteriores (Patel et al 2007;. Gharib et al 2007;. Ordinola-Zapata et al, 2009;. Chandra et al 2012). Inicialmente utilizava-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para tal finalidade, dentre outros recursos microscópicos (Vassiliadis et al 1994;. Calt & Serper, 1999; Kokkas et al 2004;.. Mamootil & Messer, 2007, Moandi et al 2009). A análise microscópica realizada por meio do MEV traz consigo a vantagem de aferição precisa da profundidade de penetração do cimento no interior dos túbulos dentinários com ampliação elevada (Patel et al. 2007). Todavia, também traz algumas desvantagens, tais como, a

impossibilidade de visualização de detalhes em baixo aumento, e a produção de artefatos durante o preparo das amostras (Mamootil & Messer, 2007), que pode acarretar em erros de avaliação. A MCVL permite controlar a profundidade do campo da amostra, durante a análise e, conseqüentemente, a obtenção de imagens em diferentes planos. Com isso, um maior detalhamento da amostra pode ser obtido.

Além de todo o exposto, faz-se necessário tecer considerações a cerca das limitações deste estudo. É importante lembrar que este trabalho é laboratorial, ou seja, faz uso de condições simuladas, o que permite a obtenção de conclusões iniciais importantes a cerca do assunto. Todo estudo laboratorial necessariamente deve ser comprovado clinicamente. Desta maneira, sugere-se a realização de trabalhos clínicos que comprovem a influência benéfica do etanol no protocolo de secagem dos canais radiculares.

CONCLUSÃO

Diante das limitações deste estudo, pode-se concluir que:

- 1) Independentemente da concentração da solução de etanol utilizada durante os procedimentos de secagem das paredes radiculares, o uso desta substância química proporciona uma maior molhabilidade entre o cimento AH Plus e a superfície dentinária;
- 2) A solução de etanol 100%, utilizada por 1 minuto durante a limpeza final das paredes dentinárias, parece ser um bom método de secagem do canal radicular, pois melhora a penetração do cimento endodôntico AH Plus no interior dos túbulos dentinários;
- 3) O aumento da molhabilidade do cimento AH Plus na superfície dentinária favorece sua penetração nos túbulos dentinários.

REFERÊNCIAS¹

1. Buckley M, Spangberg L. The prevalence and technical quality of endodontic treatment in an American subpopulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;79:92–100.
2. Calt S, Serper A. Dentinal tubule penetration of root canal sealers after root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25:431–3.
3. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. *J Endod*. 2012;38(10):1412-6.
4. Chávez de Paz LE, Bergenholtz G, Svensäter G. The effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria. *J Endod*. 2010;36(1):70-7.
5. Epley SR, Fleischman J, Hartwell G, Cicalese C. Completeness of root canal obturations: Epiphany techniques versus gutta-percha techniques. *J Endod*. 2006 Jun;32(6):541-4.
6. Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. *J Endod* 2007;33: 957–61.
7. Hu X, Ling J, Gao Y. Effects of irrigation solutions on dentin wettability and roughness. *J Endod*. 2010;36(6):1064-7.
8. Hülsmann M, Peters OA, Dummer PMH. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endodontic Topics* 2005;10:30–76.
9. Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. *J Endod*. 2008;34(5):599-602.

¹ De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com Medline.

10. Kokkas AB, Boutsoukias ACh, Vassiliadis LP, Stavrianos CK. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod* 2004;30:100–2.
11. Krause TA, Liewehr FR, Hahn CL. The antimicrobial effect of MTAD, sodium hypochlorite, doxycycline, and citric acid on *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2007;33(1):28-30.
12. Lui JN, Kuah HG, Chen NN. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. *J Endod*. 2007;33(4):472-5.
13. Mamootil K, Messer HH. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *Int Endod J* 2007;40:873–81.
14. Moon YM, Shon WJ, Baek SH, Bae KS, Kum KY, Lee W. Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. *J Endod*. 2010 Apr;36(4):732-6.
15. Moradi S, Ghoddusi J, Forghani M. Evaluation of dentinal tubule penetration after the use of dentin bonding agent as a root canal sealer. *J Endod* 2009;35:1563–6.
16. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MS, et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:450–7.
17. Osorio E, Toledano M, Aguilera FS, Tay FR, Osorio R. Ethanol wet-bonding technique sensitivity assessed by AFM. *Journal of Dental Research* 2010;89:1264–9.
18. Patel DV, Sherriff M, Ford TR, Watson TF, Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Int Endod J* 2007;40:67–71.
19. Pei D, Huang X, Huang C, Wang Y, Ouyang X, Zhang J. Ethanol-wet bonding may improve root dentine bonding performance of hydrophobic adhesive. *J Dent*. 2012;40(5):433-41.
20. Picoth T, Stotz S, Buff E, Duschner H, Staehle HJ. Influence of different etching times on hybrid layer formation and tensile bond strength. *Am J Dent* 1998;11:202–6.

21. Prado M, de Assis DF, Gomes BP, Simão RA. Effect of disinfectant solutions on the surface free energy and wettability of filling material. *J Endod.* 2011;37(7):980-2. (a)
22. Prado M, Gusman H, Gomes BP, Simão RA. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. *J Endod.* 2011 Feb;37(2):255-8. (b)
23. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J* 1995;28:12– 8.
24. Rosales JI, Marshall GW, Marshall SJ, et al. Acid-etching and hydration influence on dentin roughness and wettability. *J Dent Res* 1999;78:1554 –9.
25. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* 1994;10:105– 8.
26. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. *Dent Clin North Am* 1967;723–74.
27. Stevens RW, Strother JM, McClanahan SB. Leakage and sealer penetration in smear-free dentin after final rinse with 95% ethanol. *J Endod.* 2006 Aug;32(8):785-8.
28. Tay FR, Pashley DH, Kapur RR, Carrilho MR, Hur YB, Garrett LV, Tay KC. Bonding BisGMA to dentin--a proof of concept for hydrophobic dentin bonding. *J Dent Res.* 2007;86(11):1034-9.
29. Vassiliadis LP, Sklavounos SA, Stavrianos CK. Depth of penetration and appearance of Grossman sealer in the dentinal tubules: an in vivo study. *J Endod* 1994;20: 373–6.
30. Wu MK, Van B, Wesselink PR. Diminished leakage along root canals filled with gutta percha without sealer over time: a laboratory study. *Int Endod J* 2000;33:121–5.

APÊNDICE

1. DETALHAMENTO DA METODOLOGIA

1.1. Seleção e preparo das raízes

Foram selecionados 140 dentes humanos anteriores superiores recém-extraídos, armazenados em solução de timol 0,2% a uma temperatura de 4°C. A limpeza da face externa das raízes foi realizada com o auxílio de pontas de ultrassom e de curetas periodontais², seguida da lavagem com soro fisiológico. Os dentes foram radiografados no sentido vestibulo-lingual, com tempo de exposição de 0,2 segundos e distanciamento do cone do aparelho de raios-X ao filme radiográfico em 10 cm. As imagens radiográficas foram examinadas e as raízes que apresentaram trincas, reabsorções radiculares e calcificações foram descartadas. Os dentes tiveram suas coroas removidas com o auxílio de um disco diamantado de alta concentração³ acoplado a uma cortadeira de precisão⁴, padronizando o comprimento radicular em 18 mm, a partir do ápice. Ao final, as raízes selecionadas foram armazenadas separadamente em tubos transparentes do tipo eppendorf, contendo 1 mL de soro fisiológico.

A metodologia do presente estudo foi dividida em duas etapas: (1) avaliação das propriedades termodinâmicas e físicas da superfície dentinária, após a utilização do etanol nas concentrações de 70% e 100% e (2) verificação da influência desta solução, em ambas as concentrações, no preenchimento dos túbulos dentinários com cimento endodôntico AH Plus.

1ª Etapa

Foram selecionados 100 dentes, sendo todos submetidos a um corte longitudinal (Fig. 1A) com o auxílio de um disco diamantado dupla face⁵ adaptado a um mandril de

² Duflex – SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ 11 4244 – Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA.

⁴ Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA.

⁵ KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil.

peça reta. Ao final, foram obtidas 200 amostras dentinária (Fig. 1B), que tiveram a face interna planificada (Fig. 1C) manualmente com o uso de lixas abrasivas com diferentes granulações (180-, 400-, 600-, 1200-, 2400-).

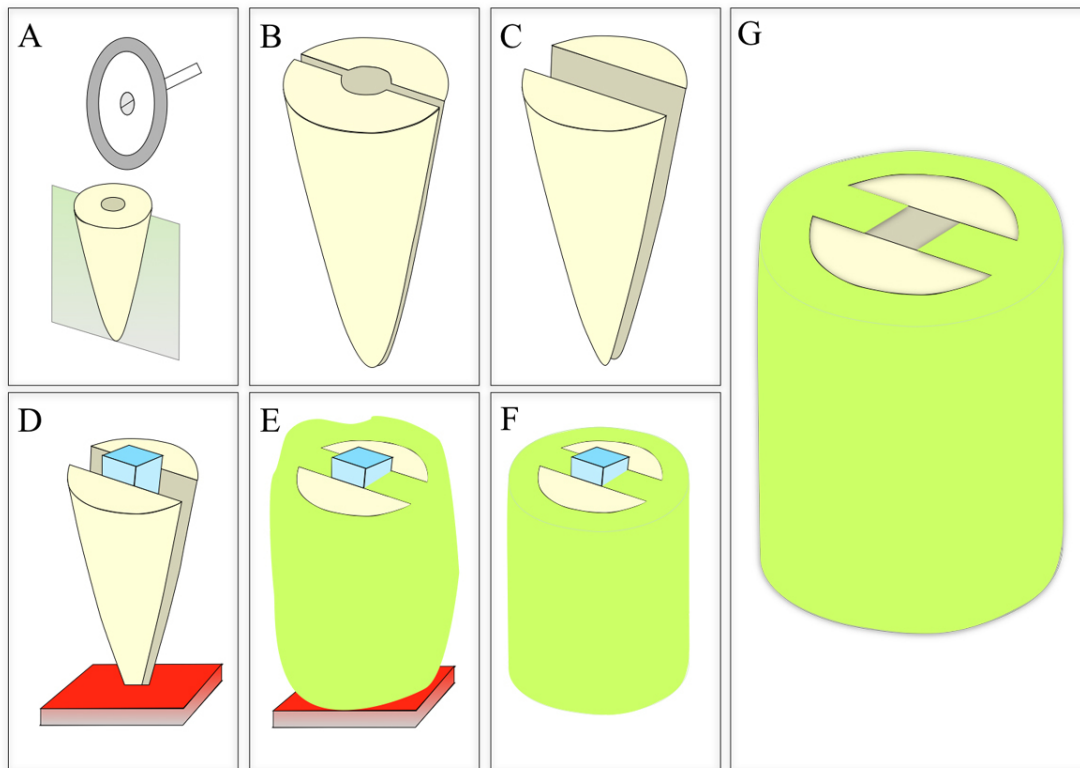


Figura 1. Esquema representativo do preparo das amostras dentinárias e confecção dos moldes. (A) Corte longitudinal da raiz com o auxílio de um disco diamantado dupla-face; (B) Amostras dentinárias; (C) Planificação das amostras; (D) Fixação das amostras e da barra de resina acrílica em uma placa de cera utilidade; (E) Preparo e adaptação da silicona de condensação ao redor das amostras dentinárias; (F) Remoção da placa de cera, da barra de resina acrílica e do excesso de silicona; (G). Molde contendo as amostras dentinárias.

Duas amostras dentinárias foram fixadas em uma placa de cera utilidade e entre elas, foi posicionada uma barra de resina acrílica⁶, confeccionada previamente, com as seguintes dimensões: 4 mm de altura, 4 mm de largura e 20 mm de comprimento. Esta barra foi utilizada para simular o espaço referente ao canal radicular instrumentado (Fig. 1D).

⁶ Clas Mold – Artigos odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil.

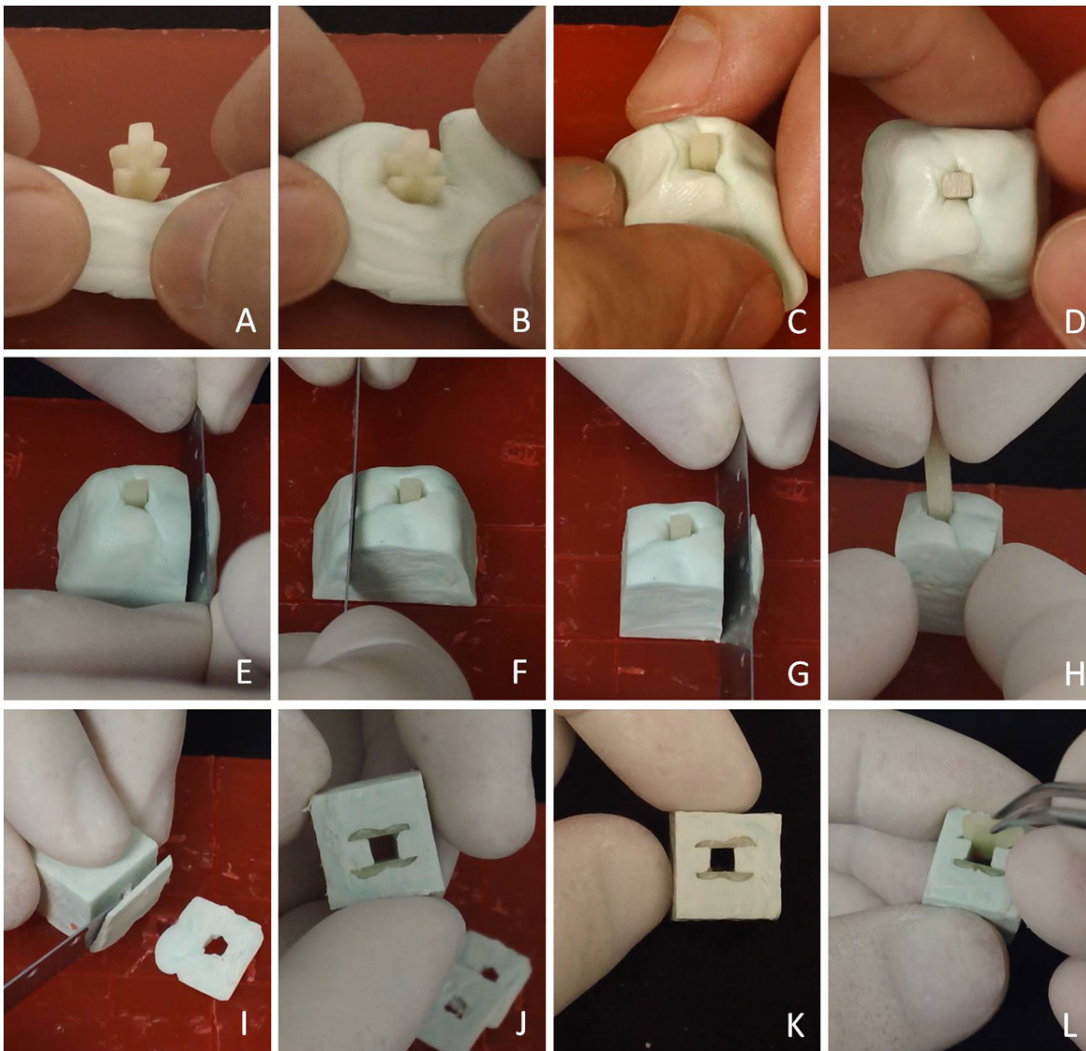


Figura 2. Preparo das amostras dentinárias em material de moldagem – silicona de condensação. (A) Manipulação inicial do material de moldagem – silicona de condensação (Speedex – Vigodent); (B – D) Adaptação do material de moldagem ao redor das amostras dentinárias; (E – G) Remoção do excesso do material de moldagem; (H) Remoção da barra de resina acrílica do molde sobre a placa de cera utilidade; (I e J) Remoção do excesso do material na porção cervical das amostras dentinárias; (K) Molde final contendo as amostras dentinárias; (L). Remoção das amostras dentinárias do molde para posterior lavagem em cuba ultrassônica.

Após a manipulação da silicona de condensação⁷ (Fig. 2A), as amostras foram cobertas pelo material de moldagem (Figuras 1E e 2B – D). Aguardado o intervalo de tempo de presa, removeu-se a barra de resina acrílica e todo o excesso da silicona, tanto das

⁷ Speedex – Vigodent SA Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

paredes laterais (Figuras 1F e 2E – G), como da porção cervical das amostras dentinárias (Fig. 2I e J). As figuras 1G e 2K mostram o molde final com as amostras dentinárias em posição.

A superfície externa do molde foi coberta por uma fita de vedação⁸ para evitar a infiltração de qualquer solução utilizada durante a execução dos procedimentos.

Estas mesmas amostras dentinárias foram removidas do molde confeccionado (Fig. 2L) e submetidas à uma limpeza em cuba ultrassônica durante 10 minutos. Em seguida, foram reposicionadas nos moldes e estes, divididos aleatoriamente em 4 grupos, de acordo com os métodos de secagem das paredes dos canais: **Grupo 1** (controle) – os canais foram irrigados com 5 mL de soro fisiológico, secos com o auxílio de pontas aspiradoras Capillary Tips⁹ e pontas de papel absorvente¹⁰; **Grupo 2** (úmido) – os canais foram secos utilizando-se apenas ponta aspiradora; **Grupo 3** (etanol 70%) – os canais foram irrigados com 5 mL de etanol 70%, secos com pontas aspiradora e cones de papel absorvente; **Grupo 4** (etanol 100%) – irrigação prévia com 5 mL de solução de etanol 100%, secagem com pontas aspiradora e cones de papel absorvente.

Finalizada esta etapa, as amostras foram levadas aos aparelhos goniômetro e rugosímetro para a avaliação da rugosidade superficial da dentina, da energia livre de superfície e do ângulo de contato formado do entre o cimento AH Plus¹¹ e a superfície dentinária.

1.2. Mensuração da energia livre de superfície

O aparelho goniômetro¹² (Figura 3) foi utilizado para medir o ângulo de contato formado entre as seguintes soluções: água destilada (polar), bromonaftaleno (apolares) e formamida (polar) e, os resultados obtidos possibilitaram o cálculo da energia livre de superfície.

⁸ Plastifluor Indústria e Comércio de Vedações LTDA, Guarulhos, SP, Brasil.

⁹ Ultradent, Indaiatuba, São Paulo, Brasil.

¹⁰ Endo Points Industrial da Amazônia, Manacapuru, AM, Brasil.

¹¹ Dentsply – Konstanz, Germany.

¹² Ramé-hart Instrument Co., Netcong, NJ, USA.



Figura 3. Aparelho goniômetro (ramé-hart instrument co image).

Um total de 120 amostras dentinárias foi utilizado para a obtenção da energia livre de superfície, sendo 30 amostras por grupo e 10 amostras por solução analisada. Foram realizadas 30 medições, num intervalo de 3 segundos, para cada gota (15 μL) da solução depositada na superfície dentinária, com o auxílio de uma micro-seringa presente no aparelho. A energia livre de superfície foi calculada com o auxílio de um software do próprio goniômetro¹³.

1.3. Mensuração da ângulo de contato

O aparelho goniômetro foi utilizado para calcular o ângulo de contato formado entre a superfície dentinária e o cimento AH Plus, sendo que foram selecionadas para esta etapa um total de 40 amostras dentinárias (10 por grupo). O cimento foi manipulado de acordo com as instruções do fabricante e inserido no interior de uma seringa de 3 mL¹⁴. Uma gota (15 μL) do cimento foi depositada na superfície dentinária de cada amostra, com o auxílio

¹³ Ramé-hart DROP Image Standard, Netcong, NJ, USA.

¹⁴ BD – Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil.

de uma agulha descartável¹⁵, sendo realizadas 30 medições num intervalo de 3 segundos. Por meio do software do aparelho calculou-se a média final do ângulo de contato formado entre a superfície dentinária e o cimento AH Plus.

1.4. Mensuração da rugosidade

Foram utilizadas 40 amostras dentinárias para verificação da rugosidade superficial, sendo 10 amostras por grupos. Cada amostra foi posicionada, de forma a ficar com a superfície dentinária plana, paralela à base do aparelho rugosímetro¹⁶ (Surfcorder SE 1700 profilometer – Kosaka Lab, Tokyo, Japan) (Figura 4) e, em cada operação de leitura considerada, a rugosidade média (Ra) representava a média aritmética entre os picos e vales registrados, após a respectiva agulha do rugosímetro percorrer, sobre superfície em análise, um trecho de 2 mm de extensão, com cut-off de 0,25 mm. Em cada superfície foram efetuadas 3 leituras, sempre com a agulha passando pela área representativa da luz do canal. Assim, a média das 3 leituras era considerada a rugosidade média de cada superfície.



Figura 4. Aparelho rugosímetro.

2ª Etapa

¹⁵ BD – 0,55 x 20 mm 24G – Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil.

¹⁶ Surfcorder SE 1700 profilometer – Kosaka Lab, Tokyo, Japan.

Nesta etapa foram selecionadas 40 raízes, que tiveram os canais radiculares instrumentados pela técnica coroa-ápice, com limas rotatórias de níquel-titânio do sistema K3¹⁷ – Procedure-Pack. O diâmetro e a conicidade final do forame apical foi 25.06. Entre o uso de cada lima, o canal foi irrigado com 5 mL de soro fisiológico e, em seguida, preenchido com Clorexidina Gel 2%¹⁸. A patência do canal foi mantida entre cada troca de instrumento, com a passagem de uma lima tipo K # 15¹⁹ além do forame apical. Ao término da instrumentação, os canais foram irrigados com solução de EDTA 17% durante 3 minutos, sendo que houve uma troca desta solução a cada minuto. A limpeza final das paredes dos canais foi feita com 5 mL de soro fisiológico e, em seguida, as raízes foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos (n=10), de acordo com os métodos de secagem, mencionados na 1ª etapa deste trabalho.

Os canais foram obturados pela técnica de Schilder e com o uso de cones de guta-percha da marca Autofit²⁰ e cimento endodôntico AH Plus. Ao cimento foi acrescentado o marcador fluorescente Rodamina B, em uma quantidade referente a 0,1% do volume total, de acordo com a metodologia proposta por Ordinola-Zapata *et al.* (2009).

O cone de guta-percha utilizado na obturação foi calibrado em 2 números acima do diâmetro final do forame apical. O cimento endodôntico foi inserido no interior do canal com o auxílio do cone de guta-percha previamente selecionado. Após a realização destes procedimentos, o cone foi assentado definitivamente no interior do canal. A condensação do cone de guta-percha no interior dos canais, bem como a remoção do excesso do material obturador foram feitas de acordo com os princípios preconizados pela técnica de Schilder. A presença de espaços vazios e/ou de novos canais radiculares foi verificada com a realização de tomadas radiográficas, imediatamente após o selamento da entrada do canal com material restaurador provisório²¹.

1.5. Preparo das amostras para análise em microscopia confocal de varredura a laser

¹⁷ Sybronendo, Glendora, CA, USA.

¹⁸ Endogel, Essencial Farma – Itapetininga, SP, Brasil.

¹⁹ Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland.

²⁰ Analytic Endodontics, Orange, CA, USA.

²¹ Coltosol, Vigodent / Coltene – RJ, Brasil.

As raízes foram fixadas com o auxílio de cera pegajosa em placas de acrílico com as seguintes dimensões: 40 mm de comprimento x 40 mm de largura x 8 mm de profundidade. Todo o conjunto, foi levado a uma cortadeira de precisão²², que continha um disco diamantado de alta concentração²³ para a confecção de discos de dentina com espessura de 1 mm, a partir de 2 mm do ápice. No final, foram obtidos 12 espécimes (4 espécimes / terço radicular). Removeu-se a guta-percha presente no interior do canal de cada amostra dentinária com o auxílio de uma sonda exploradora reta, evitando que este material obturador interferisse no procedimento de polimento da superfície dentinária, estabelecido na 1ª etapa deste trabalho.

As amostras foram colocadas em uma lâmina histológica para a análise em Microscopia Confocal de Varredura a Laser (Leica Microsystems GmbH, Mannheim, Germany) (Figura 5). As características referentes ao marcador Rodamina B, tais como, a variação do comprimento de onda e o tipo de laser necessário para a análise foram inseridas previamente à captura das imagens. Finalizada esta etapa, as imagens foram analisadas em um software específico²⁴, que permitiu avaliar a porcentagem e profundidade de penetração do cimento endodôntico no interior dos túbulos dentinários. Da mesma forma, possibilitou calcular a área de cada espécime penetrada pelo cimento endodôntico e comparar os valores de intensidade do marcador em todos os terços apicais.

²² Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL, USA

²³ 11-4244, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA

²⁴ Leica Microsystems software – LAS-AF



Figura 5. Microscópio Confocal de Varredura a Laser.

Diante dos resultados e após a verificação da normalidade dos dados foram aplicados testes ANOVA / Tukey, com nível de significância de 5%, para a comparação estabelecida entre os grupos.

ANEXO 1

Fwd: Submission Confirmation for Evaluation of different ethanol conc... and interaction between AH Plus and root canal dentin - Yahoo! Mail 10/04/13 18:25



Fwd: Submission Confirmation for Evaluation of different ethanol concentrations on the dentin surface roughness, surface free energy and interaction between AH Plus and root canal dentin

Terça-feira, 9 de Abril de 2013 8:45

De: "José Flávio Affonso de Almeida" <jfa.almeida@gmail.com>
Para: "Carlos Augusto M S Pantoja" <campsantoja@yahoo.com.br>

Begin forwarded message:

From: "The Journal of Endodontics" <JEndodontics@uthscsa.edu>
Subject: Submission Confirmation for Evaluation of different ethanol concentrations on the dentin surface roughness, surface free energy and interaction between AH Plus and root canal dentin
Date: April 8, 2013 7:59:29 AM GMT-03:00
To: jfa.almeida@gmail.com, jfalmeida@fop.unicamp.br

Dear Dr. Affonso de Almeida,

Your submission entitled "Evaluation of different ethanol concentrations on the dentin surface roughness, surface free energy and interaction between AH Plus and root canal dentin" has been received by the Journal of Endodontics.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Journal of Endodontics web site as an author.

The URL is <http://ees.elsevier.com/joe/>

Your username is: jfa.almeida@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/joe/automail_query.asp

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to the Journal of Endodontics.

Kind regards,

Journal of Endodontics