

VIVIANE RAIZER MENDES

INFLUÊNCIA DO TIPO DE IMAGEM DIGITAL NA AVALIAÇÃO DE INFILTRAÇÃO DE CORANTES

Dissertação apresentada ao Centro de
Pós-Graduação / CPO São Leopoldo
Mandic, para obtenção do grau de Mestre
em Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia

CAMPINAS
2007

VIVIANE RAIZER MENDES

INFLUÊNCIA DO TIPO DE IMAGEM DIGITAL NA AVALIAÇÃO DE INFILTRAÇÃO DE CORANTES

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-Graduação / CPO São Leopoldo Mandic, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Rielson José Alves Cardoso

CAMPINAS
2007

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca "São Leopoldo Mandic"

M538i Mendes, Viviane Raizer.
Influência do tipo de imagem digital na avaliação de infiltração de corantes / Viviane Raizer Mendes. – Campinas: [s.n.], 2007.
99f.: il.

Orientador: Rielson José Alves Cardoso.
Dissertação (Mestrado) – C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-Graduação.

1. Tratamento do canal radicular. 2. Infiltração dentária.
3. Endodontia. I. Cardoso, Rielson José Alves. II. C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-Graduação. III. Título.

*C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS
SÃO LEOPOLDO MANDIC*

Folha de Aprovação

A dissertação intitulada: “INFLUÊNCIA DO TIPO DE IMAGEM DIGITAL NA AVALIAÇÃO DE INFILTRAÇÃO DE CORANTES” apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: Endodontia em __/__/____, à comissão examinadora abaixo denominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.

*Prof. (a) Dr (a) Rielson José Alves Cardoso
Orientador*

*Prof. (a) Dr (a)
1º Membro*

*Prof. (a) Dr (a)
2º Membro*

A Deus: pelo dom da vida.

A minha família: fonte inesgotável de amor, compreensão e apoio.

Cada um, a seu modo, tornou-se insubstituível e essencial nos caminhos da vida.

Meu respeito e eterna gratidão

À **minha avó Silvalina**, meu porto seguro, hoje repleto de saudade. Ensinou-me muito da vida, sorrindo sempre. Amo você.

À **minha mãe** pelo amor incondicional e exemplo de vida essencial à minha formação. Minha primeira mestra, sempre ao meu lado, encorajando-me e apoiando-me.

Ao **meu pai**, muito amigo, pelo apoio, amor, incentivo e exemplo de vida. Por ter aberto as portas do meu futuro iluminando o caminho com a luz mais brilhante: o estudo.

As minhas irmãs, **Liliane e Lívia**, por serem a face do amor incondicional e pelo cheiro de “colo de Deus”.

Ao meu irmão por escolha, **Emerson**, pelo incentivo constante, confiança e amizade. Obrigada por toda ajuda!

Ao amor companheiro **Neverson** pelo apoio, compreensão da ausência, cumplicidade e incentivo constante.

Ao amigo **Marcos Csezaki** “padrinho” deste sonho.

Aos meus presentes de Deus deste mestrado, **Hevelin e Regina** pela amizade, amor, carinho, amparo, colo, tempestades enfrentadas e superadas juntas, pela insônia produtiva.

As queridas **Ying e Josete** pela amizade fraterna.

Ao amigo **Marcelo Fava** pelo ombro, poltrona dividida e vida compartilhada!

A querida Dra. **Ilíria Feist** pela amizade e colaboração significativa.

A Dra. **Marta** pela acolhida e carinho.

Ao Professor **Rielson José Alves Cardoso** pelos ensinamentos, orientação da idealização à conclusão deste projeto, sempre com presteza e dedicação.

A Professora **Maine** pelo auxílio e incentivo constante durante os difíceis dias de indecisão do tema.

Ao Professor **Marcelo Santos** pelos ensinamentos e gentil colaboração na idealização e construção da “bomba”.

A todos aqueles que direta e indiretamente colaboraram para realização deste sonho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	7
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	9
RESUMO.....	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Características da Dentina	14
2.2 Aspectos Morfológicos	14
2.3 Permeabilidade Dentinária	16
2.4 Fatores que alteram a Permeabilidade Dentinária.....	17
2.4.1 Cárie, Atrição e Abrasão X Permeabilidade	18
2.4.2 Idade X Permeabilidade	19
2.4.3 Vitalidade Pulpar X Permeabilidade	19
2.4.4 Tratamento Endodôntico e “Smear layer” X Permeabilidade	20
2.5 Métodos Para o Estudo da Permeabilidade Dentinária	27
2.5.1 Condutância Hidráulica	28
2.5.2 Espectrofotometria	29
2.5.3 Método Eletroquímico.....	31
2.5.4 Infiltração de Agentes Traçadores.....	34
2.6 Imagens Digitais.....	50
3. PROPOSIÇÃO	56
4. MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1 Material	57
4.2 Métodos	60
4.2.1 Seleção e Preparo da Amostra.....	60

4.2.2 Preparo Químico - Cirúrgico	61
4.2.3 Corante.....	63
4.2.4 Preparo do Experimento.....	63
4.2.5 Bomba de Fluxo Contínuo.....	65
4.2.6 O Experimento.....	67
4.2.7 Captura de Imagens	70
4.2.8 Medição das imagens em Software ImageLab	70
5. RESULTADOS.....	74
7. CONCLUSÃO	91
ABSTRACT.....	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
ANEXOS	

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	- porcentagem
“	- polegada
µg	- micrograma
µm	- micrômetro
⁴⁵ CaCl ₂	- Cloreto de Cálcio
Â	- Angstrom
A	- Área
Ac	- Área corada
At	- Área total
cm	- Centímetros
C°	- Graus Celsius
DeCS	- Descritores de Ciências em Saúde
EDTA	- Ácido DiaminoTetracético
Er:YAG	- Laser de Érbio: Ítrio alumínio e granada
FC24	- Fluxo contínuo por 24 horas
FC3	- Fluxo contínuo por 3 horas
Hz	- Hertz
I ¹³¹	- Iodo 131
IP	- Infiltração Passiva
J	- Joule
JPEG	- Joint Photographic Experts Group
KHz	- Kiloherztz
Lp	- Condutância hidráulica

M	- Molar
MB	- Megabites
mg	- Miligramas
mJ	- Mili Joule
mL	- Mililitros
mm ²	- Milímetro quadrado
mmHg	- Milímetro de mercúrio
Na ²²	- Sódio 22
nm	- Namômetro
nº	- número
P ³²	- Fósforo 32
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PVC	- Policloreto de Vinila (Plástico)
rpm	- Rotações por minuto
TIFF	- Tagged Image File Format

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Espécimes impermeabilizados	62
FIGURA 2 - Conjunto seringa/ agulha/ dente	64
FIGURA 3 - Bomba de Fluxo contínuo sem as mangueiras de irrigação	65
FIGURA 4 - Bomba de fluxo contínuo com as mangueiras de irrigação	66
FIGURA 5 - Aplicação do corante por Infiltração Passiva	67
FIGURA 6 - Aplicação de corante por Fluxo Contínuo.....	68
FIGURA 7 - Incubadora com controle de temperatura a 37°C	69
FIGURA 8 - Primeira tela de trabalho do ImageLab. A imagem a ser analisada é aberta e tem seu tamanho adequado ao monitor	71
FIGURA 9 - Segunda tela de trabalho do ImageLab. Calibração: ferramenta que permite a conversão de pixel para milímetros	72
FIGURA 10 - Terceira tela de trabalho do ImageLab. Parte da área a ser avaliada é delimitada e, é pedido ao software que realize a mensuração (em milímetros ²).....	73
Tabela 1 - Descrição das variáveis.	74
Tabela 2 - Medidas em mm ² da área total, área corada, proporções e médias de infiltração sob formato de arquivo JPEG	75
Tabela 3 - Medidas em mm ² da área total, área corada, proporções e médias de infiltração sob formato de arquivo TIFF	75
Tabela 4 - Estatística Descritiva	76
Gráfico 1 - Proporção avaliada segundo tratamento e formato	77
Tabela 5 - Resultados do Método de Tukey.....	78

RESUMO

Levando em conta à necessidade de padronizar metodologias de impregnação de agentes traçadores e sua respectiva leitura para obtenção de resultados mais confiáveis e comparáveis nos testes de infiltração e permeabilidade dentinária, este trabalho propôs-se a avaliar comparativamente medições de áreas de dentina corada por solução de azul de metileno, sob três formas de impregnação e leitura em dois formatos de arquivos digitais, TIFF e JPEG. Foram utilizadas 30 raízes, de pré-molares humanos, preparadas química e mecanicamente. Os espécimes foram aleatoriamente divididos em três grupos e infiltrados por azul de metileno 0,5%, a temperatura constante de 37°C, sob três condições: infiltração passiva por 24 horas e fluxo contínuo por 3 e 24 horas. Após os períodos experimentais os espécimes foram clivados no sentido ápico cervical obtendo-se duas hemipartes e a porção correspondente ao canal foi preenchido com Cimpat rosa. As hemipartes de cada espécime foram fotografadas na proporção de 1:1 e salvos em dois formatos: *Joint Photographers Experts Group* (JPEG) e RAW (arquivo “cru” ou mais próximo do original). Posteriormente os arquivos RAW foram convertidos em arquivos *Tagged Image File Format* (TIFF). Realizou-se a medição da área de dentina corada em ambos os arquivos gravados TIFF e JPEG, com auxílio do *software* de análises de imagens ImageLab2.3. Os valores obtidos foram tabulados. Nas condições deste experimento concluiu-se que a Infiltração Passiva produziu resultados mais homogêneos das áreas coradas que o Fluxo Contínuo e, o fator formato de arquivo não mostrou diferença estatisticamente significativa em nenhuma das interações tratamento/ formato.

1. INTRODUÇÃO

A realização de um adequado tratamento endodôntico passa pela modelagem e desinfecção do sistema de canais radiculares o que proporciona a remoção tanto da matéria orgânica, quanto da matéria em decomposição desta complexa estrutura anatômica. Para isto utilizamos substâncias químicas auxiliares associadas ao preparo mecânico dos canais.

Esta atuação no sistema de canais radiculares altera a permeabilidade dentinária, fator fundamental para a atuação de medicações complementares que favorecem a desinfecção.

Dada sua grande importância, vários autores têm se dedicado ao estudo da permeabilidade dentinária e suas conseqüências no decorrer dos últimos anos. Com objetivo de avaliar quantitativamente a permeabilidade vários métodos foram desenvolvidos. Dentre eles cumpre destacar os que se valem de isótopos radioativos, microrganismos e seus subprodutos, técnicas de filtração de fluidos, métodos histoquímicos, condutância hidráulica e aqueles que empregam o uso de corantes como agentes indicadores.

FISH (1933) foi um dos primeiros pesquisadores a recorrer a indicadores de permeabilidade dentinária. Estudos de infiltração constituíram a maior parte da pesquisa endodôntica contemporânea nos anos de 1989 e 1990. A penetração de corantes continua a ser a metodologia mais empregada e discutida, pois produz áreas de cor distinta da dentina e dos materiais restauradores sem a necessidade de posteriores reações química ou exposições à radiação.

A literatura recomenda diferentes corantes, concentrações, tempos e

condições de contato além de uma grande quantidade de métodos de leitura e avaliação de resultados.

Apesar de amplamente utilizadas as técnicas de infiltração de corantes e seus diversos métodos de avaliação são bastante criticados principalmente pela falta de standardização, há muita dúvida e inconsistência com relação aos resultados analisados de trabalhos que utilizam a infiltração de agentes traçadores.

Um dos principais problemas relacionado à metodologia de avaliação da infiltração é a subjetividade no momento da leitura dos dados. A utilização de *softwares* capazes de mensurar distâncias minimiza possíveis erros ligados ao operador, diminuindo a subjetividade. Para utilização destes recursos é necessária a digitalização da informação.

O uso de imagens digitais para pesquisas em Odontologia apresenta vantagens pelos recursos de manipulação e processamento além de excelente qualidade e riqueza em detalhes. Os equipamentos fotográficos possuem capacidade de armazenar as informações em arquivos digitais diversos: TIFF, acrônimo de *Tagged Image File Format*, JPEG, *Joint Photographers Experts Group* e RAW, do inglês crú, natural.

A principal diferença entre estes arquivos é a quantidade de informações armazenadas e conseqüentemente seu tamanho digital. O arquivo RAW é o que possibilita maior aproximação com a imagem real, e por isso é um arquivo grande. Arquivos em TIFF comprimem a imagem, diminuindo seu tamanho, sem que haja perdas de informações. Imagens em JPEG possibilitam o arquivamento de informações em espaços menores. Neste caso as imagens são comprimidas, suprimindo informações redundantes, aproveitando-se das limitações da visão humana em relação a quantidade de tons disponíveis no computador.

A escolha entre um formato e outro dependerá do uso que se queiram dar as imagens obtidas. A exigência da resolução é, portanto, variável para cada aplicação. Impressões exigem resoluções que ofereçam maior definição. Imagens para uso em monitores podem apresentar menor resolução.

Algumas perguntas ainda não foram adequadamente respondidas e circulam em torno dos resultados obtidos sob diferentes condições experimentais e métodos de avaliação diversos, conduzindo a conclusões nem sempre comparáveis entre si. Por isto parece clara a necessidade de mais pesquisas no que diz respeito ao uso de corantes na marcação de áreas de infiltração ou de variações na permeabilidade dentinária e métodos de avaliação dos dados obtidos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características da Dentina

A dentina é o componente do dente produzido pelos odontoblastos, células que secretam matriz colágena ao deslocarem-se centripetamente em direção à polpa durante a odontogênese. Esta matriz de colágeno é posteriormente mineralizada, exceto por uma fina camada de pré-dentina, próxima à polpa (PASHLEY, 1991).

Do ponto de vista estrutural, é um tecido conjuntivo calcificado composto por aproximadamente 70% de material inorgânico na forma de cristais de hidroxiapatita, 20% de fibras colágenas e 10% de água. Pode ser classificada como primária, secundária e terciária tendo como diferencial a época em que ocorreu sua formação e características estruturais. A dentina primária é depositada até o momento em que o dente entra em contato com o antagonista, ao término do processo eruptivo. A dentina secundária é depositada após formação da dentina radicular notadamente no teto e assoalho da câmara pulpar de maneira assimétrica. A dentina terciária é aquela produzida em resposta a estímulos do meio externo como cárie, atrição, abrasão e procedimentos restauradores. Sua deposição ocorre nas subjacências do estímulo modificando a arquitetura pulpar e dentinária (ESTRELA, 2004).

2.2 Aspectos Morfológicos

A principal característica morfológica deste tecido é a presença de túbulos dentinários, cones invertidos circundados por uma bainha de tecido dentinário hiper

mineralizado, a dentina peritubular, que abrigam no seu interior os prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos e vão desde a junção amelodentinária até a pré-dentina. O diâmetro do túbulo, próximo à junção amelodentinária, é aproximadamente 0,5 a 0,9 μm aumentando para 2 a 3 μm nas proximidades da polpa (PASHLEY, 1991).

MARSHALL JUNIOR (1993) em uma revisão sobre a microestrutura da dentina descreveram os túbulos como estruturas de paredes irregulares, ramificações laterais e micro canalículos que se conectam aos túbulos adjacentes. Os autores colocaram ainda que estes túbulos são preenchidos com fluido dentinário e processos odontoblásticos. A permeabilidade dentinária é uma característica altamente variável e dependente da localização, sendo maior próximo à polpa que nas áreas adjacentes em consequência à convergência e aumento de diâmetro dos túbulos nesta área. Estas variações na permeabilidade podem ainda ser resultado de diferenças regionais, irregularidade nos túbulos associada a depósitos minerais, componentes orgânicos dos processos odontoblásticos ou depósitos de colágeno intratubular.

Utilizando microscópio óptico e microscópio eletrônico de varredura, MJÖR & NORDAHL em 1996, avaliaram a densidade e as ramificações dos túbulos dentinários de dentes humanos. Os autores observaram secções de dentes e concluíram, em relação à densidade, que o número de túbulos dentinários do terço médio da porção coronária é estatisticamente maior em relação ao mesmo terço da porção radicular, diminuindo, ainda mais, em direção apical. Quanto às ramificações, encontraram um intrincado e profuso sistema de anastomoses canaliculares, de diferentes tamanhos que afetam diretamente o padrão de permeabilidade dentinária.

Em 2001, novamente estudando a região apical de dentes humanos,

MJÖR *et al.*, através de microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica, confirmaram as variações estruturais marcantes desta região crítica nos procedimentos endodônticos, incluindo canais radiculares acessórios, áreas de reabsorção e reparo, calcificações pulpares, quantidades variadas de dentina secundária irregular, túbulos dentinários dispostos irregularmente e muitas vezes ausentes, tornando ainda mais difícil a já delicada tarefa de intervir cirurgicamente nesta área.

A leve conicidade dos túbulos é em função do processo de mineralização da dentina peritubular que ocorre durante toda vida do indivíduo. Apesar de existirem variações na quantidade de túbulos por área, a estrutura tubular ocupa de 20 a 30% do volume de dentina íntegra. Em números absolutos aparecem em média de 20.000 túbulos por mm^2 , próximo a junção amelo dentinária e 75.000 por mm^2 próximo a pré-dentina, com diminuição gradual de diâmetro do centro para a periferia (ESTRELA, 2004).

2.3 Permeabilidade dentinária

Substâncias penetram na polpa através da dentina e do esmalte, o que só é possível graças à característica tubular do tecido dentinário. Os túbulos são os principais canais para difusão de fluidos através da dentina.

Segundo PASHLEY (1986), a permeabilidade dentinária pode ser definida como o movimento de fluidos ou produtos químicos através dos túbulos dentinários por unidade de tempo e está na dependência da área de dentina exposta ou cortada, espessura remanescente, do número, diâmetro e grau de oclusão dos túbulos dentinários, concentração de fluidos e da presença do magma dentinário ou

outros precipitados.

A troca de fluidos, no sentido polpa dentina, é uma das principais responsáveis pela manutenção da vitalidade dentinária, pois desta forma é que a dentina pode ser remineralizada no processo de cárie (CARDOSO & SKELTON MACEDO, 2000).

Bactérias e seus metabólitos, notavelmente ácidos orgânicos e enzimas proteolíticas, causam destruição de esmalte e dentina difundindo internamente substâncias tóxicas, principalmente via túbulos dentinários, podendo causar patologias pulpares (ESTRELA, 2004).

Segundo o Descritor em Ciências da Saúde (2007) a esta propriedade da dentina, que permite a passagem de corpos, tais como fluídos, líquidos e gases através de seus túbulos dá-se o nome de permeabilidade dentinária.

2.4 Fatores que alteram a permeabilidade dentinária

A permeabilidade manifesta-se de forma diferente em função da região dentinária considerada, se coronária ou radicular e ainda conforme o terço radicular considerado. Quanto mais para o terço apical menor a permeabilidade devido à diminuição no número e diâmetro dos túbulos dentinários, conforme demonstrado por GREMPEL *et al.* (1990).

Em uma revisão das correlações clínicas entre a estrutura da dentina e suas funções PASHLEY (1991) justificou o aumento exponencial da permeabilidade dentinária nas proximidades da polpa através de duas evidências que atuam conjuntamente: a convergência e o aumento do diâmetro dos túbulos próximo à câmara pulpar.

Estudos mostram que estímulos externos como desgaste e corte do tecido dentinário, lesões de cárie, atrição, abrasão, preparo cavitário (PASHLEY, 1991; LILLO *et al.*, 1992), alterações fisiológicas em função da idade (GREMPEL, 1990; PASHLEY, 1991; TAGAMI, 1992), além do tratamento físico-químico aplicado na terapia endodôntica (MARSHALL *et al.*, 1960; ROBAZZA & ANTONIAZZI, 1976; MOURA *et al.*, 1978; ROBAZZA *et al.*, 1981; MOURA & PAIVA, 1989; GUTIERREZ *et al.*, 1990; TAO *et al.*, 1991; PRATI, 1994; SIQUEIRA 2004) são modificadores da permeabilidade e contribuem para que não haja um padrão uniforme.

2.4.1 Cárie, atrição e abrasão x permeabilidade

Toda vez que o dente é acometido por uma agressão em suas estruturas vitais, a unidade funcional polpa-dentina desenvolve uma resposta de defesa, que pode ser explicada em vários níveis: na dentina através da esclerose, no limite dentinopulpar pela formação de dentina reacional e na polpa com a inflamação.

PASHLEY (1991), revisando as correlações clínicas da estrutura dentinária e suas funções, justificou a necessidade de constantes estudos nesta área uma vez que a resposta do complexo dentino pulpar a alterações ambientais é um processo dinâmico que tende diminuir as conseqüências clínicas de agressões sofridas por estas estruturas.

Em uma revisão sobre a esclerose dos túbulos dentinários LILLO *et al.* (1992) definiram tal fenômeno como sendo a obliteração dos túbulos através de material mineralizado, que determina um grau variável de redução do diâmetro destes. Tal fenômeno pode ser uma expressão do envelhecimento do dente, ou seja, fisiológico, ou ainda um mecanismo de defesa em resposta a estímulos

bacterianos (cárie), mecânicos (atrição e abrasão) ou químicos (materiais restauradores) que poderiam prejudicar a integridade do complexo dentino-pulpar.

Estas reações básicas que tendem a proteger a polpa contra cárie envolvem diminuição na permeabilidade dentinária, através da obliteração dos túbulos dentinários e formação de nova dentina. Segundo ESTRELA (2004), a resposta mais comum á cárie, atrição e abrasão é a esclerose da dentina, ou seja, frente a um estímulo os túbulos são total ou parcialmente obliterados com depósitos minerais.

2.4.2 Idade X Permeabilidade

GREMPEL em 1990, fazendo uma avaliação comparativa da permeabilidade dentinária com dois diferentes tipos de corantes, pode concluir que o terço radicular menos permeável para ambos foi o apical, seguido, em ordem crescente, pelo terço médio e cervical. Observou também que os espécimes da faixa etária de 31 a 66 anos apresentaram uma menor penetração de corantes, se comparados àqueles de faixa etária menor.

Em 1992, TAGAMI *et al.*, comparando grupos de dentes jovens e mais velhos, com processos de cárie ou não, concluíram que a permeabilidade dentinária diminui em função da idade e do processo de cárie, fato possivelmente explicado pela formação constante de dentina peritubular ao longo da vida do indivíduo.

2.4.3 Vitalidade Pulpar X Permeabilidade

Estudos de PASHLEY (1991) apontaram outro fator modificador da permeabilidade dentinária demonstrando que, funcionalmente, em casos de polpa

viva, o diâmetro dos túbulos dentinários é muito menor que as dimensões observadas microscopicamente. O diâmetro tubular observado microscopicamente é aproximadamente 0,5 a 0,9 μm na junção amelo dentinária e funcionalmente é como se apresentassem 0,1 μm de diâmetro, devido à presença de material intratubular como, fibrilas colágenas, constrictões mineralizadas e prolongamentos odontoblásticos, além do fluido pulpar. Esta característica tende proteger a polpa de infecções, pois torna o espaço disponível menor que o diâmetro da maioria dos microrganismos.

O autor revisou ainda nesta publicação a função e estrutura dentinária em que a difusão de toxinas através da dentina “*in vivo*” sofre oposição parcial através da circulação do fluido intersticial pulpar. Esta taxa de difusão depende da pressão pulpar, que em condições normais é constante e mede aproximadamente 10 a 11 mmHg e condutância hidráulica da dentina. Esta circulação de fluidos é maior na ausência de *smear layer* e inversamente proporcional a espessura de dentina. Isto possivelmente explica porque alguns autores encontram menor infiltração em estudos “*in vivo*” que “*in vitro*”, quando estes processos protetores do complexo dentino pulpar não estão presentes e as condições de permeabilidade são mais constantes.

2.4.4 Tratamento Endodôntico e “Smear layer” X Permeabilidade

MARSHALL *et al.* (1960) estudaram os efeitos do tratamento endodôntico na permeabilidade dentinária radicular com auxílio de agentes traçadores. Os autores questionaram à capacidade de alguns medicamentos, de uso comum na época, penetrarem nos túbulos dentinários uma vez que estas estruturas são capazes de abrigar células bacterianas como conseqüência da infecção pulpar.

Concluíram que além de existir uma diferença de permeabilidade entre os terços radiculares diminuindo de cervical para apical, o tratamento empregado praticamente não produz alterações na dentina apical e o aumento do espaço do canal radicular, através do uso de alargadores e limas endodônticas, exerce uma pequena influência sobre a permeabilidade radicular, diminuindo-a.

A partir da década de 70 surgiram os primeiros experimentos endodônticos utilizando-se de microscopia eletrônica de varredura, em que foi possível constatar a ocorrência da formação de uma massa aderida às paredes do canal radicular, produzida através do corte da dentina, denominada de *smear layer*. Descrita inicialmente por McCOMB & SMITH (1975), esta camada é constituída por substâncias orgânicas e inorgânicas, incluindo raspas de dentina, fragmentos de processos odontoblásticos, material necrótico e microrganismos.

ROBAZZA & ANTONIAZZI (1976) verificaram, empregando o azul de metileno 0,5% como agente traçador, a permeabilidade da dentina radicular após a utilização de substâncias irrigadoras e demonstraram, também, que a região apical é menos permeável ao corante em relação ao terço médio e cervical.

MOURA *et al.* (1978) estudaram “*in vivo*” e “*in vitro*” a relação entre permeabilidade dentinária e uso de substâncias químicas no preparo do canal radicular, argumentando que as soluções irrigadoras devem modificar o conteúdo do canal de modo a facilitar a instrumentação e simultaneamente, concorrer para a remoção da dentina excisada e no combate aos microrganismos situados na luz do canal e profundamente na massa dentinária, no interior dos túbulos dentinários, sem lesar os tecidos vivos do espaço periapical. A substância química auxiliar da instrumentação foi o creme de Endo PTC neutralizado pelo líquido de Dakin, seguido de irrigação final com a associação tergentol - furacin. Os autores concluíram que

não existem diferenças estatisticamente significantes de permeabilidade dentinária quando da comparação do estudo “*in vivo*” com o estudo “*in vitro*” e que a região apical é menos permeável ao azul de metileno. Constataram, porém um grande aumento da permeabilidade dentinária quando do uso do referido creme.

ROBAZZA *et al.* (1981) estudaram “*in vitro*”, empregando azul de metileno como agente traçador, as variações na permeabilidade dentinária após o uso de alguns fármacos auxiliares no preparo endodôntico. Os autores ressaltaram a necessidade das substâncias químicas aumentarem a permeabilidade dentinária possibilitando a destruição dos microrganismos no interior dos canalículos dentinários e permitindo uma maior difusão da medicação intracanal, aumentando sua efetividade. Concluíram que o creme de Endo PTC neutralizado pelo líquido de Dakin, das substâncias experimentais empregadas, foram as que provocaram maior aumento da permeabilidade do terço apical e melhor homogeneidade quanto à penetração do azul de metileno. Os autores confirmaram ainda os achados de Marshall *et al.* (1960) e ROBAZZA & ANTONIAZZI (1976), comprovando a menor permeabilidade da região apical em relação a outras áreas radiculares.

DIPPEL *et al.* (1981) estudando “*in vitro*” a influência do *smear layer* e materiais de forramento na permeabilidade dentinária encontraram que esta se reduz em 40% quando o *smear layer* não é removido.

Em 1983, PASHLEY mediu o efeito da temperatura na taxa de vazão de solução salina através de dentina tratada com ataque ácido e não tratada. Geralmente a permeabilidade aumenta com a temperatura, no entanto o aumento foi maior na dentina tratada com ácido. Este trabalho ressaltou o importante papel do *smear layer* como modulador da permeabilidade. Quando está presente o *smear layer* é dimensionalmente menos influenciado por propriedades térmicas como

expansão do diâmetro do túbulo e viscosidade do fluido. Com a remoção do *smear layer* estas variáveis podem ter um importante papel na determinação da permeabilidade da dentina.

Em 1984 MADER *et al.*, com auxílio de microscopia eletrônica de varredura estudaram as características morfológicas do *smear layer* produzido durante a instrumentação endodôntica com limas tipo K e irrigação com hipoclorito de sódio 5,25%. Os autores demonstraram que o *smear layer* é composto por dois elementos: uma camada fina fracamente aderida à parede do canal radicular medindo aproximadamente 1 a 2 μm de espessura e, material compactado no interior dos túbulos dentinários podendo atingir até 40 μm , chamado de *smear plug*.

MOURA & PAIVA (1989) avaliaram "*in vitro*", as alterações na permeabilidade dentinária radicular tendo como fonte de variação o número de usos e tipo de instrumento endodôntico utilizado no preparo químico mecânico. Foi utilizado como agente traçador a azul de metileno 0,5%. Concluíram que, independente do tipo de instrumento utilizado, a porcentagem de penetração do corante decresce com o número de usos, não existindo diferença estatística entre os instrumentos utilizados.

GUTIERREZ *et al.* (1990) estudaram o risco da dissolução intencional do *smear layer* após o preparo químico mecânico de canais radiculares. Os autores encontraram melhores resultados na remoção do *smear layer* quando o EDTA 17% foi associado ao hipoclorito de sódio 5,25% e que, o cimento obturador penetrava nos túbulos dentinários em profundidades superiores a 15 μm nos locais onde não havia sujidades.

TAO *et al.* (1991), ao estudar "*in vitro*", através de filtração de fluidos, os efeitos de uma seqüência de procedimentos endodônticos utilizando limas K e

brocas de Gates Glidden na permeabilidade dentinária radicular, discutiram que durante os procedimentos de preparo mecânico ocorre remoção de estrutura radicular simultaneamente à produção de “*smear layer*” que se deposita sobre as paredes radiculares e no interior dos túbulos dentinários. A permeabilidade aumenta em proporção inversa à espessura de dentina ou superfície de área interna do canal. No entanto, estas alterações morfológicas do canal radicular, que deveriam ter resultado em aumento da permeabilidade, foram minimizadas pela criação de “*smear layer*” levando a uma pequena mudança na permeabilidade dentinária radicular. Os autores também explicaram que apesar da pouca espessura a dentina apical é menos permeável em função da menor quantidade de túbulos e presença de maior quantidade de dentina esclerótica.

PRATI em 1994 estudando a relevância dos testes de permeabilidade dentinária “*in vitro*” afirmou que o *smear layer* foi capaz de reduzir a zero a velocidade de circulação de fluidos, mas sua remoção aumentou significativamente o valor da permeabilidade. Ou seja, a presença do *smear layer* diminui ou mesmo anula a capacidade de substâncias difundirem-se pelo tecido dentinário.

BRAGUETTO *et al.* (1997) pesquisaram “*in vitro*” a capacidade de limpeza promovida pela solução de Dakin, pela solução de EDTA, pela mistura das soluções de Dakin e EDTA na proporção de 1:1 e pelo uso alternado da solução de Dakin com a solução de EDTA, quando utilizadas na instrumentação dos canais radiculares, por meio da microscopia óptica e da análise morfométrica. Os resultados evidenciaram que o uso da solução de Dakin quer misturada, quer alternada com a solução de EDTA promove canais mais limpos, ou seja, com menor porcentagem de detritos do que com o uso das demais soluções utilizadas isoladamente. Os autores concluíram ainda que nenhuma das soluções irrigantes testadas possibilitou a

ausência completa de detritos no interior dos canais radiculares e os terços apicais e médios apresentaram-se estatisticamente semelhantes quanto à porcentagem de detritos encontrados, qualquer que fosse a solução irrigante empregada.

ABINADER *et al.* (2000) realizaram um trabalho a fim de verificar a infiltração apical "*in vitro*" em dentes obturados através de condensação lateral, na presença ou ausência de *smear layer*. Foram utilizados 14 dentes humanos unirradiculares, divididos em dois grupos: um removia-se o *smear layer* com auxílio de ácido cítrico 10% e no outro a camada de magma era mantida. Os autores utilizaram o corante azul de metileno por 48 horas para avaliar a infiltração. Os resultados mostraram diferenças estatísticas entre os grupos, sendo que a remoção do *smear layer* reduziu consideravelmente a infiltração do corante na região apical.

ALMEIDA (2001) avaliou o efeito da remoção do *smear layer*, através de irrigação final com EDTA 17% ou aplicação de LASER Er:YAG com os parâmetros de 140 mJ, 15 Hz e energia total de 42J, na infiltração marginal coronária tendo como fonte de variação dois cimentos endodônticos. A solução irrigante utilizada durante o preparo químico cirúrgico foi o hipoclorito de sódio 1%. O agente traçador foi tinta nanquim, sob infiltração passiva por 60 dias a 37°C. Após o período experimental os dentes foram diafanizados e mediu-se a infiltração coronária. Os resultados evidenciaram que a utilização de procedimentos que removem a "smear layer" (hipoclorito de sódio a 1% + EDTA a 17% e hipoclorito de sódio a 1% + Laser Er:YAG) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si e propiciaram menor infiltração coronária que os canais irrigados somente com a solução de hipoclorito de sódio a 1%.

Em uma completa revisão sobre as implicações clínicas do *smear layer* TORABINEJAD (2002) salientou que no interior dos túbulos de dentes com canais

radiculares infectados, pode haver bactérias viáveis mesmo após o processo de limpeza e modelagem e a presença desta camada impede a penetração de medicação intracanal nas irregularidades do sistema de canais e túbulos dentinários além de impedir a perfeita adaptação dos materiais obturadores na superfície do canal radicular.

BARROSO *et al.* (2002) compararam, utilizando rodamina B 1% como agente traçador, o aumento da permeabilidade dentinária radicular frente irrigação final com EDTA 17% ou ácido cítrico 10% após preparo químico cirúrgico tendo como solução irrigadora o Hipoclorito de sódio 4%. Os autores ressaltaram a importância da remoção do *smear layer* durante o tratamento endodôntico permitindo melhor sanificação e vedamento do sistema de canais radiculares. Concluíram que o EDTA 17% tem ação superior ao ácido cítrico no aumento da permeabilidade dentinária.

SIQUEIRA (2004) estudou a capacidade de dissolução do tecido pulpar bovino pela ação de soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações 0,5%, 1%, 2,5% e 5% e digluconato de clorexidina 2%, variando o pH destas substâncias e as temperaturas de uso em 27°C e 37°C. Baseado em uma completa revisão de literatura o autor salientou que ao finalizar o preparo químico cirúrgico, a superfície do canal radicular e a intimidade dentinária devem estar, ao máximo possível, livre de sujidades, sejam elas orgânicas ou inorgânicas. Desnaturar ou transformar a matéria orgânica são de fundamental importância e deve funcionar como principal meio de obtenção de desinfecção, podendo esta ser complementada por medicação intracanal e pelo próprio selamento do sistema de canais radiculares. Através deste estudo concluiu-se que as soluções sofrem influência do pH, temperatura e concentração, nessa ordem decrescente, para agir sobre a dissolução do tecido.

MAGALHÃES (2005) revisando a literatura referente à influência de substâncias químicas auxiliares do preparo químico cirúrgico sobre a permeabilidade dentinária salientou que o hipoclorito de sódio destaca-se por suas propriedades bactericida e de ação solvente do tecido orgânico; entretanto o mesmo não é capaz de remover a porção inorgânica do *smear layer* produzida pelo uso de instrumentos endodônticos no interior dos canais radiculares. Por outro lado, o EDTA sendo um quelante, é capaz de remover a porção inorgânica do *smear layer*, aumentando a permeabilidade dentinária quando utilizado de forma alternada ao hipoclorito de sódio.

2.5 Métodos Para o Estudo da Permeabilidade Dentinária

Em 1991, em uma revisão de literatura PASHLEY salientou o interesse no estudo de permeabilidade dentinária uma vez que esta característica da dentina seria apenas de interesse acadêmico se os materiais restauradores selassem as cavidades perfeitamente. Infelizmente, a maioria destes materiais oferece algum grau de infiltração. Falhas marginais entre esmalte/dentina e materiais seladores, na ordem de 10 a 20 μm não são acontecimentos raros. O tamanho das células bacterianas varia de 0,2 a 5 μm e assim poderiam facilmente infiltrar nestas falhas onde continuariam invadindo o espaço disponível através de divisões celulares.

Mais recentemente em 2000, CARDOSO & SKELTON MACEDO registraram a grande preocupação de Endodontia e Dentística Restauradora relativa ao vedamento de cavidades, já que a impermeabilização total ainda é um sonho.

Desde as primeiras décadas do século passado, um grande número de autores, empregando diferentes técnicas e métodos de avaliação, têm se dedicado

ao estudo da permeabilidade dentinária no mais das vezes objetivando verificar a capacidade seladora de materiais restauradores e obturadores do sistema de canais radiculares. As principais metodologias relatadas na literatura a respeito de infiltração são condutância hidráulica, espectrofotometria, eletroquímica e penetração de agentes traçadores como corantes, isótopos, microrganismos ou seus metabólitos, associados ou não a utilização de meios físicos como vácuo ou ultrassom.

2.5.1 Condutância Hidráulica

A forma cônica dos túbulos dentinários combinada à ação de capilaridade possibilita circulação de fluidos na dentina. Pashley, pioneiro no estudo das propriedades transportadoras que definem solutos e movimento de fluidos no interior de estruturas capilares semelhantes aos túbulos dentinários e a membrana vital chamada dentina, publicou em 1974, em parceria com OUTWAIT *et al.*, o primeiro trabalho experimental utilizando um método laboratorial para medir a permeabilidade dentinária através de condutância hidráulica. A condutância hidráulica (L_p) mede a facilidade com que o movimento de fluidos ocorre através de uma membrana em um gradiente hidráulico. Este gradiente pode ser dirigido por forças hidrostáticas ou osmóticas. Na membrana da dentina, o movimento de fluidos ocorre via túbulos dentinários. Resumidamente, neste trabalho o autor utilizou fatias finas de dentina coronária de terceiros molares humanos extraídos fixadas em uma lâmina de "plexiglass", que continha em uma das extremidades um reservatório. Uma extremidade era conectada a uma fonte de pressão hidrostática e outra ligada em um meio para medir a taxa de fluxo ou coletar o fluido difundido. Esta técnica representou um avanço significativo no entendimento da permeabilidade dentinária,

pois possibilitou a estandardização de variáveis como espessura, superfície de área e pressão aplicada.

Revisando o complexo dentino pulpar, PASHLEY (1996) reforçou sua convicção na facilidade oferecida pelo método da condutância hidráulica em estudos de permeabilidade dentinária. A condutância hidráulica, e, portanto a permeabilidade dentinária diminui na presença de debris. A espessura da dentina e a permeabilidade são diretamente proporcionais. A presença de smear layer é mais importante que a espessura dentinária na redução da condutância hidráulica.

2.5.2 Espectrofotometria

ZAKARIASEN *et al.* (1981) propuseram um método espectrofotométrico para determinar o volume de infiltração apical em dentes tratados endodonticamente. Os dentes testados foram obturados, impermeabilizados com cera exceto no forame apical, e submersos em solução aquosa de azul de metileno 2%. Após o período de exposição adequado e limpeza da superfície externa coberta por cera o espécime era dissolvido em uma solução de ácido nítrico 35%. Utilizando uma relação linear que existe entre a concentração do corante e sua leitura espectrofotométrica, a solução obtida a partir da dissolução do dente é analisada no espectrofotômetro e a concentração de corante é determinada. Dados a concentração do corante e o volume da solução teste pode-se calcular o volume de solução corante a 2% que infiltrou no canal radicular. Os autores concluíram ser o método de fácil utilização e minimamente sujeito à interferência humana, fornecendo como resultado final uma avaliação quantitativa da infiltração ao invés de medidas lineares que não são indicadores satisfatórios do volume de fluido infiltrado.

Comparando análise linear e volumétrica na infiltração apical de corante após preparo para retentor intra-radicular MADISON & ZAKARIASEN (1984) encontraram uma fraca correlação entre ambas. Os autores submeteram os espécimes à infiltração passiva utilizando como traçador o azul de metileno 0,2% por um período de duas semanas. Para avaliação linear os espécimes foram seccionados longitudinalmente e medidos com auxílio de uma régua milimetrada e para análise volumétrica as raízes foram dissolvidas por uma solução de ácido nítrico 35% e as leituras de cada amostra foram feitas por um espectrofotômetro. Os autores justificaram não ser a medida linear um indicador satisfatório do volume do fluido de infiltração e indicam estudos adicionais para verificar esta correlação.

KERSTEN & MOORER (1989) compararam a microinfiltração bacteriana e de endotoxina com o azul de metileno 0,1 por uma e duas semanas. 46 dentes monorradiculares tiveram suas coroas removidas e receberam tratamento endodôntico. Os dentes foram montados em tubos de poliestireno com as extremidades abertas, que posteriormente foram seladas por uma membrana de borracha e permitiam coletas do líquido infiltrado para análise. A hemiparte coronária do tubo recebeu uma suspensão contendo 1 mg/mL de gotas de látex de tamanho equivalente a alguns microrganismos, 4 µg/mL de endotoxina bacteriana, 0,5% de ácido butírico, produto metabólico bacteriano, 0,5% de ácido valérico que serviu como marcador interno para cromoterapia de gás, e azul de metileno 0,1%. Na extremidade apical foi colocado uma de solução aquosa de ácido valérico 0,1% pH 7.0. Os espécimes foram mantidos a 37°C por uma semana. Após este período foram colhidas amostras do reservatório apical para análise. Os espécimes foram submetidos a uma pressão de 15 Ncm⁻² no reservatório coronário e mantidos por mais uma semana a 37°C, quando as amostras foram novamente analisadas. A

análise das gotas de látex foi através de observação direta em microscópio com magnificação de 790 vezes. A presença dos ácidos butírico e valérico foi através de cromatografia de gás, a concentração de azul de metileno foi através de espectrofotometria. A endotoxina foi analisada usando o teste *limulus lysate*. Ao fim do período experimental os espécimes foram seccionados e avaliados em estereomicroscópio com magnificação de 52 vezes para checar o caminho de penetração de corante. Em alguns casos o azul de metileno não foi detectado pelo espectrofotômetro no reservatório apical, mas através da estereomicroscopia foi possível verificar penetração do corante a alguma distância. Observou-se ainda que a penetração do corante aumenta com o tempo e aplicação de pressão. Os autores sugeriram que testes qualitativos e quantitativos de infiltração com materiais de baixo peso molecular, como o azul de metileno, têm significado prático duvidoso e concluem que a microinfiltração de substâncias de alto peso molecular ou microrganismos são de maior relevância.

CAMPS & PASHLEY (2003) compararam três metodologias de infiltração em dentes tratados endodonticamente. Utilizaram como traçador uma solução aquosa de azul de metileno 2% para comparar a infiltração passiva com filtração de fluídos e espectrofotometria. Analisando os resultados os autores demonstraram limitação metodológica apresentada pela infiltração passiva, principalmente com relação à avaliação linear dos espécimes seccionados em um único plano e, registraram que os outros métodos utilizados forneceram resultados semelhantes.

2.5.3 Método Eletroquímico

JACOBSON & VON FRAUNHOFER (1976) descreveram uma nova técnica eletroquímica para medir a microinfiltração em dentes tratados

endodonticamente. A técnica consistia em mergulhar o dente, conectado através da porção coronária a um bastão metálico ligado em uma fonte elétrica, em uma solução de cloreto de potássio. Outro cabo de aço inox, também conectado a uma fonte elétrica é mergulhado na mesma solução. Quando ocorre infiltração, através do selamento apical, em volume suficiente para alcançar o bastão metálico, que funciona como ânodo e sofre corrosão, se estabelece um caminho eletrolítico contínuo. O bastão de aço inox funciona como cátodo na célula galvânica e não sofre corrosão. O tempo entre a imersão e o fluxo da corrente mostra precisamente a taxa de penetração do cloreto de potássio e o tamanho da corrente indica o grau de penetração.

DELIVANIS & CHAPMAN em 1982, utilizaram o método eletroquímico para comparar e correlacionar com metodologias de infiltração de traçadores (corantes e radioisótopos) comumente empregadas para medir infiltração marginal. Para tanto, os autores avaliaram 100 dentes tratados endodonticamente que tiveram 2/3 do material obturador removido. Todos os espécimes foram avaliados através do método histoquímico antes de serem divididos em dois grupos que receberam infiltração de radioisótopo ($^{45}\text{CaCl}_2$) e de corante (azul de metileno) por 48 horas. Após este período experimental os dentes foram seccionados longitudinalmente. As avaliações quantitativas da infiltração, nas hemi-seções no grupo do azul de metileno e das autorradiografias no grupo do radioisótopo, foram através de dupla inspeção visual em que era atribuído um escore classificando a infiltração como alta ou baixa. Os autores mostraram existir boa correlação entre os achados eletroquímicos e de infiltração, tanto de corante como de radioisótopo, porém defenderam que o método eletroquímico, por apresentar leitura quantitativa da infiltração é mais objetivo e oferece medidas mais facilmente analisadas e

comparáveis. Além disso, este método oferece a vantagem de permitir mensurações durante um longo período de tempo, avaliando o momento em que ocorre maior infiltração. Com relação aos métodos infiltrativos os autores questionam a subjetividade da avaliação qualitativa da infiltração, tornando muito difícil a comparação entre diferentes estudos.

KARAGENÇ *et al.* (2006) correlacionaram os resultados de quatro diferentes testes de microinfiltração, a saber: infiltração de traçador bacteriano, infiltração de azul de metileno 2% durante cinco dias precedida pela aplicação de vácuo por 30 minutos, filtração de fluidos e método eletroquímico. A análise da infiltração do azul de metileno foi através de avaliação sob aumento de 50 vezes com estereomicroscópio nos espécimes diafanizados. Os resultados encontrados foram contraditórios, não havendo correlação entre os métodos utilizados. Creditaram estas discrepâncias aos diferentes princípios metodológicos de cada teste, pois os resultados são dependentes do método utilizado, sendo o fenômeno da infiltração governado por leis de eletricidade, filtração e difusão. Questionaram ainda a relevância clínica de avaliações "*in vitro*" da microinfiltração, uma vez que a correlação entre qualidade de selamento observada nestes testes e resposta tecidual "*in vivo*", com índices de aproximadamente 90% de sucesso nos tratamentos endodônticos é falha. Os autores sugeriram que pesquisas com intuito de estabelecer metodologias de infiltração são mais importantes que constantes avaliações de diferentes materiais e técnicas com os métodos disponíveis atualmente, devido a pouca relevância dos resultados.

2.5.4 Infiltração de Agentes Traçadores

A penetração de corantes e radioisótopos são as técnicas mais comumente usadas em estudos de infiltração e permeabilidade dentinária. Estudos que se valem da utilização de agentes traçadores em pesquisas endodônticas se distribuem basicamente em dois aspectos: a aferição de percolações marginais ou a quantificação da permeabilidade dentinária. Os traçadores mais comumente utilizados são as soluções corantes que possibilitam a leitura direta da área demarcada. Apesar da facilidade oferecida pela técnica e sua ampla utilização a técnica sofre críticas em diversos aspectos revisados a seguir.

Um dos primeiros pesquisadores a recorrer a um indicador de permeabilidade dentinária foi FISH em 1933 *apud* GOING (1960), que no intuito de analisar o que ocorria na dentina radicular humana inseriu solução de azul de metileno na cavidade pulpar de dentes extraídos, por 24 horas a 37°C. Após o seccionamento dos espécimes evidenciou a penetração do agente traçador, desde a cavidade pulpar até as junções amelo-dentinária e cimento-dentinária. Observou que nos dentes oriundos de pacientes mais idosos, o padrão de penetração do corante manifestava-se em menor intensidade, e que, diante de doença periodontal, decorria obliteração periférica dos túbulos dentinários, por depósitos altamente translúcidos.

Dentre os trabalhos clássicos, que utilizaram como agente traçador um radioisótopo para avaliar a capacidade de selamento de diferentes técnicas e materiais obturadores encontra-se o proposto por DOW & INGLE (1955), em que relacionaram o insucesso da terapia endodôntica à percolação apical. Para tanto os autores utilizaram-se da infiltração do radioisótopo I^{131} em dentes humanos anteriores extraídos. Após preparo endodôntico os dentes foram obturados através

de condensação lateral e submetidos à infiltração passiva do radioisótopo por 120 horas. Após o período experimental, os dentes foram seccionados no sentido longitudinal e tiveram a superfície do canal polida. Estas superfícies polidas foram colocadas sobre um filme radiográfico e expostas à radiação em câmara escura com objetivo de “imprimir” o contorno do dente sob o filme para que atuasse como ponto de referência para localização do isótopo. As amostras foram deixadas sob o filme por cinco dias, ao final deste período as autorradiografias foram reveladas. Como resultado os autores obtiveram infiltração do radioisótopo em toda a amostra.

MARSHALL *et al.* (1960) estudaram os efeitos de procedimentos endodônticos na permeabilidade dentinária radicular valendo-se de infiltração de radioisótopos como traçador da infiltração. Os autores avaliaram 253 dentes humanos unirradiculares. Os espécimes foram divididos em grupos onde, após terem suas coroas removidas, receberam tratamento endodôntico e medicações variadas, com objetivo de testar o efeito que cada procedimento exerce sob a permeabilidade dentinária radicular. A permeabilidade foi testada antes e depois de cada tratamento através da inserção de aproximadamente 0,03 mL de solução isótopa no interior do canal por 24 horas à 37°C em 100% de umidade. Os traçadores utilizados foram o S^{35} , Na^{22} , I^{131} e P^{32} . Passadas 24 horas, os espécimes foram seccionados no sentido longitudinal. Foram preparados autogramas de cada hemi-seção utilizando filme radiográfico convencional. Foram feitas radiografias de cada hemiparte. As radiografias e autogramas foram superpostos, a imagem obtida foi impressa permitindo assim uma melhor localização do isótopo no dente. Cada espécime teve o Índice de Permeabilidade Dentinária (IPD) calculado. Para tanto, a raiz foi dividida em áreas (cervical, média e apical). Cada área foi subdividida em terços designando extensão e profundidade de penetração do corante. A

profundidade de penetração foi quantificada dividindo cada área em terços ao longo do comprimento dos túbulos dentinários e cada nível de penetração, em 1/3, 2/3 ou através do comprimento total era registrado como 1, 2 ou 3 respectivamente. A extensão de penetração foi avaliada dividindo também, cada área em terços ao longo do comprimento do canal radicular e registrada com os mesmos critérios que os utilizados para a profundidade de penetração. Desta forma cada terço da raiz (cervical, médio e apical) foi dividido em nove quadrados. O IPD foi determinado em cada área através da multiplicação da média de profundidade pela média da extensão de penetração do isótopo em cada área. Os autores também contaram os quadrados marcados pelo traçador em cada área, num máximo de nove, e obtiveram os mesmos resultados com ambos os métodos.

GOING *et al.* (1960) avaliaram a integridade marginal de materiais restauradores em cavidades classe V de dentes humanos empregando como traçadores um corante, solução aquosa de cristal violeta 0,025% e um radioisótopo, o I^{131} . Os autores manifestaram preocupação em determinar um tempo ideal de imersão dos espécimes no corante ou radioisótopo e questionaram a possibilidade de transportar resultados obtidos a partir de pesquisas “*in vitro*” para a clínica, onde as condições apresentam-se tão diversas. Para avaliar a infiltração os autores valeram-se de leitura direta das autorradiografias dos dentes infiltrados pelo isótopo e de fotografias coloridas das secções dos dentes corados pelo cristal violeta, examinadas sob aumento de cinco vezes. Como resultado de testes paralelos à pesquisa os autores sugerem, após terem comparado tempos de imersão de 1 hora, 24 horas e uma semana tanto para o corante como para o radioisótopo, que uma exposição de 24 horas ao agente traçador a temperatura ambiente é suficiente para alcançar máxima difusão e penetração através da dentina, e a intensidade do

manchamento também é influenciada pelo tempo de imersão ao corante.

ANTONIAZZI *et al.* (1968) avaliaram as propriedades seladoras de materiais obturadores utilizando dentes humanos tratados endodonticamente e infiltrados com solução de azul de metileno a 0,5% tamponado em pH 7. Os autores preocupavam-se em considerar fatores que influenciam a avaliação dos resultados, levantando a questão da dificuldade na standardização destes métodos, justificando que ao alterar a técnica de avaliação podem-se obter resultados diferentes para um mesmo material. A solução corante foi tamponada, pois, segundo os autores, o caráter ácido da substância poderia dissolver parte da porção inorgânica dos tecidos mineralizados, o que resultaria em conversão da solução em leucometileno, alterando assim sua capacidade corante. A avaliação da infiltração foi visual sob um aumento de quatro vezes em microscópio óptico.

ROBAZZA & ANTONIAZZI (1976) avaliaram o comportamento de algumas substâncias químicas auxiliares da instrumentação frente à permeabilidade dentinária e avaliaram comparativamente os dois métodos de análise de permeabilidade, propostos por MARSHALL *et al.* (1960). A solução corante empregada na avaliação foi o azul de metileno a 0,5% mantido em contato por 24 horas a 37°C em 100% de umidade relativa. Os autores concluíram que os métodos de análise propostos, na ocasião, apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, quando compararam os resultados de ambos e o método dos quadrados fornece menor margem de erro.

OPPENHEIMER & ROSENBERG (1979) avaliaram o efeito das alterações de temperatura nas propriedades seladoras de materiais restauradores provisórios. Para tanto utilizaram infiltração passiva de solução aquosa de azul de metileno a 2%, a temperatura ambiente e sujeito a variações de temperatura de 4°C

e 60°C. Os autores ressaltaram que os testes que utilizam soluções corantes como traçadores são superiores aos que utilizam bactérias, pois em solução, a partícula do corante é muito menor que um microrganismo e, além disso, os testes com corantes são comparáveis à infiltração por radioisótopos.

Em 1981, ROBAZZA *et al.* utilizaram novamente a metodologia de leitura dos quadrados, proposta por MARSHALL *et al.* (1960), para avaliar “*in vitro*” as variações de permeabilidade da dentina radicular em dentes humanos de acordo com diferentes fármacos utilizados como substâncias químicas auxiliares durante o preparo químico mecânico. Os autores utilizaram para este estudo 40 dentes hígidos, recém extraídos. Após o preparo químico mecânico, variando as substâncias químicas auxiliares, os dentes foram imersos em azul de metileno 0,5% por 24 horas a 37°C em 100% de umidade. Passado o tempo experimental os dentes foram seccionados longitudinalmente no sentido mésio distal e o índice de permeabilidade dentinária foi determinado.

No intuito de comparar a eficácia dos métodos de infiltração de traçadores, em 1982 MATLOFF *et al.* desenvolveram uma pesquisa associando diferentes substâncias (um sal, o cloreto de cálcio, uma molécula neutra, a uréia e uma proteína, a albumina) marcadas por radioisótopos a uma solução aquosa de azul de metileno 2%. Os autores submeteram 63 dentes unirradiculares recém extraídos, preparados endodonticamente e obturados através de condensação lateral à infiltração passiva por 48 horas. Após o período experimental os dentes foram seccionados longitudinalmente e a profundidade de penetração do corante foi medida diretamente, em milímetros, com um calibrador Vernier, e a profundidade de penetração dos isótopos foi obtida através da sobreposição das autorradiografias aos desenhos do contorno externo do dente obtidos na radiografia final de

obturação. Os autores afirmaram que nenhum dos radioisótopos penetrou tanto quanto a solução de azul de metileno.

PITT FORD (1983) realizou um estudo em que relacionou a resposta tecidual ao selamento das obturações endodônticas. Realizou comparações “*in vivo*” e “*in vitro*” com cães da raça Beagle. O agente traçador de escolha foi a eosina, o método utilizado para penetração do corante foi infiltração passiva por 48 horas. A avaliação da infiltração foi linear, através de medições na projeção das fotografias coloridas obtidas das secções longitudinais dos espécimes. O autor comentou que os resultados de testes de infiltração com corantes foram superestimados no passado, uma vez que existe uma grande diferença entre os tamanhos das partículas do corante e das células bacterianas.

TROWBRIDGE (1987) estudando modelos de avaliação da microinfiltração na determinação de seus efeitos biológicos afirmou que a análise realizada sob a infiltração de microrganismos é mais realista do que sob penetração de soluções corantes, pois as moléculas dos corantes são muito menores que microrganismos.

GLYN JONES *et al.* (1988) estudaram a infiltração marginal associada a materiais restauradores para dentes posteriores considerando que a dentina possa ser utilizada como bom indicador de infiltração marginal. Para tanto, os autores empregaram a metodologia da infiltração passiva de corante usando como agente traçador uma solução de eosina 4%, tamponada em pH 7,4 por 48 horas. Após o período experimental as coroas foram seccionadas no sentido méso - distal e fotografadas com câmara fotográfica automática acoplada a um estereomicroscópio. A avaliação quantitativa da infiltração foi realizada com auxílio de um *software* analisador de imagem, o Magiscan 2, que mede a área total de dentina e a área de

dentina corada. As medidas, inicialmente obtidas em pixels foram usadas para calcular a porcentagem de área que exibiu infiltração. Os autores consideraram que o aparato para análise da imagem oferece um grau de sensibilidade adequado.

MOURA & PAIVA (1989) avaliaram *“in vitro”*, as alterações na permeabilidade dentinária radicular tendo como fonte de variação o número de usos e tipo de instrumento endodôntico utilizado no preparo químico mecânico. Foi utilizado como agente traçador a azul de metileno 0,5% em pH 7,2 a 37°C através de infiltração passiva por 24 horas em 100% de umidade. Os espécimes foram incluídos em gesso pedra. Após a presa os blocos sofreram desgastes ate que toda cavidade pulpar ficasse aparente. Após polimento desta superfície os espécimes foram observados em microscópio óptico com magnificação de 50 vezes. Através desta leitura foram demarcados pontos referentes ao perímetro do canal, a linha de penetração do corante e o perímetro externo da raiz. Os pontos observados identificaram polígonos que tiveram as áreas de superfície e áreas infiltradas pelo corante calculadas. Ao dividir a área de penetração do corante pela área total de superfície correspondente e multiplicar por cem, obtém-se a porcentagem de penetração do corante.

Neste mesmo ano, GOLDMAN *et al.* avaliando estudos de infiltração que envolvem penetração de traçadores encontraram ampla variação nos resultados obtidos. Preocupando-se com a obtenção de resultados mais fidedignos, quando da utilização destas metodologias, propuseram um estudo *“in vitro”* em que avaliaram a hipótese da penetração de agentes traçadores ser inibida por bolhas de ar presente no canal radicular. Utilizaram 90 dentes monorradiculares recém extraídos, preparados endodonticamente. Os espécimes foram submetidos à infiltração passiva do corante cristal de violeta por três horas e submetidos a comparações quanto à

posição horizontal e vertical das raízes, na presença ou ausência de vácuo. Após este período experimental os espécimes foram clivados no sentido longitudinal e análise da infiltração foi feita com auxílio de um contador de Boley. Após a verificação dos resultados puderam concluir que com a utilização do vácuo, independente da posição do dente, a penetração do corante foi completa em todos os espécimes analisados e que na ausência da aplicação do mesmo, os resultados apresentaram grandes variações. Segundo os autores estas discrepâncias e a grande variabilidade nos resultados são justificadas pela exposição accidental do ar na etapa experimental. Os autores concluíram que os métodos de estudos de infiltração de traçadores que não consideram a remoção prévia do ar precisam ser reavaliados e a pesquisa por métodos mais precisos são necessária para obtenção de informações corretas.

YOUNGSON *et al.* (1990), através da infiltração passiva de eosina 5% tamponada em pH 7,4 por 48 horas em cavidades preparadas e restauradas nas coroas de 30 pré-molares recém extraídos, correlacionaram medidas lineares de comprimento de infiltração com medidas de área infiltrada pela solução traçadora. As coroas foram seccionadas longitudinalmente e fotografadas, com magnificação de 2,25 vezes, para posterior avaliação no software para análise de imagens Magiscan 2. Os autores concluíram existir uma fraca correlação ente medidas lineares e de área e sugerem que medidas lineares são inadequadas para medir infiltração e que embora a área de penetração possa ser expressa em mm² seria preferível expressá-la como porcentagem da área total analisada para que comparações entre os grupos possam ser mais significantes.

Em 1991, OLIVER & ABBOTT estudaram os efeitos de bolhas de ar, ocupando espaços vazios, na infiltração do azul de metileno 2%. Foram utilizados

tubos capilares submetidos à infiltração do agente traçador através de infiltração passiva por sete dias, centrifugação a 3000 rpm por cinco minutos e vácuo de 26 mmHg também por cinco minutos. A medida da penetração linear do corante foi feita através de raspagem dos capilares a partir da cavidade selada até que o corante pudesse ser observado com auxílio de um estereomicroscópio com magnificação de 12 vezes. As medidas foram feitas com uso de uma régua com graduações de 0,5mm. Os resultados obtidos demonstraram um índice de 100% de penetração do agente traçador quando se utilizou a imersão sob vácuo, 91,7% para o método da centrifugação e 20,7% para imersão passiva. A centrifugação aumenta a pressão hidrostática da solução de corante comprime o ar nos espaços vazios, permitindo maior penetração de corante. Um efeito similar pode ser alcançado na técnica passiva por imersão dos espécimes em uma profundidade maior de solução de corante. Os autores demonstraram preocupação com as variações metodológicas que influenciam os resultados significativamente e alertam para a dificuldade na comparação entre diferentes estudos por conta da falta de padronização nas técnicas experimentais.

No ano de 1992, PASHLEY *et al.* compararam a habilidade de agentes adesivos selarem a dentina em preparos para coroa total utilizando dois métodos de medição da qualidade do selamento da dentina, a saber: o sistema de filtração de fluidos, pioneiramente utilizado por BRANNSTROM *et al.* (1967) *apud* SENA (1990), como método de avaliação longitudinal não destrutivo objetivando avaliar alterações na permeabilidade dentinária após diversos procedimentos, e infiltração do nitrato de prata 50% por duas horas, mergulhados em revelador fotográfico sob corrente elétrica por quatro horas. As coroas foram seccionadas no sentido mesio distal. Foram feitos aumentos fotográficos para permitir quantificar o grau da penetração do

corante nas áreas proximais de dentina exposta usando um quadro digitalizado. Este método mostrou a porcentagem de área corada na dentina proximal relativa à área total de dentina proximal exposta, incluindo ambos o grau de superfície que corou e a profundidade de dentina corada. Os autores encontraram uma correlação linear altamente significativa entre os dois métodos.

TAYLOR & LYNCH (1992), em uma completa revisão de literatura a respeito das técnicas usadas para avaliar microinfiltração, compreendendo o período entre 1960 e 1991 observaram que a penetração de corante continuava a ser a metodologia mais popular entre as técnicas, pois produz áreas de cor distinta da dentina e dos materiais restauradores sem a necessidade de posteriores reações químicas ou exposição à radiação. Com relação aos métodos de análise da microinfiltração comentaram que a maioria utiliza avaliação direta, na maioria das vezes com auxílio de magnificação, obtendo desta maneira uma representação bidimensional de um fenômeno tridimensional. Concluíram que a grande variedade de métodos leva a uma falta de padronização entre os pesquisadores, o que torna difícil a comparação entre técnicas semelhantes e produz resultados inconsistentes. Comentam ainda que os métodos de avaliação, apesar de inúmeras tentativas realizadas para desenvolver sistemas de contagem padronizados, são altamente subjetivos. Os autores sugeriram que a solução deste problema passa pelo desenvolvimento de uma técnica padronizada usando métodos e materiais estabelecidos.

No ano de 1993 STARKEY *et al.* avaliaram os efeitos da variação de pH do corante azul de metileno 2% em infiltração apical. Para os autores o estudo justificou-se por ser a penetração de corantes o método mais utilizado para avaliação de infiltração apical e o azul de metileno o traçador mais comumente

usado em concentrações que variam de 0,25% a 10%. Raízes tratadas endodonticamente e retro obturadas foram submetidas à infiltração passiva, precedida pela aplicação de vácuo por 15 minutos, durante sete dias à 37°C. As soluções corantes utilizadas apresentavam pH controlado de 1, 2, 3, 5, 7 e uma solução não tamponada, diluída a partir de água deionizada. A análise da infiltração foi realizada pela medição linear das hemipartes, após a clivagem dos espécimes, com auxílio de um estereomicroscópio sob magnificação de sete vezes. A adição do corante a água deionizada baixou o pH da solução de 6,45 para 2,66. Foram observadas perdas nas medidas de esmalte e cemento em todos os grupos de pH inferiores a 7, conseqüência da dissolução do conteúdo mineral das raízes, sendo este efeito mais pronunciado nos grupos de pH menores. Com relação à quantidade de infiltração não houve diferenças significativas entre os diferentes grupos de pH. Em todas as soluções houve uma tendência ao aumento de pH com o passar do tempo. Os autores especularam que sendo a dentina um excelente tampão, ao ser dissolvida na solução inicialmente ácida, torna o corante saturado por fosfato de cálcio, gerando, conseqüentemente, um aumento no pH.

No mesmo ano DICKSON & PETERS avaliando a capacidade de selamento marginal apical promovido por diferentes técnica de obturação utilizaram tinta da Índia a 37°C por cinco dias valendo-se de infiltração passiva e aplicação de vácuo calibrado para 25mm Hg por 30 minutos. Os espécimes permaneciam em posição vertical durante todo período experimental. Os resultados não demonstraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

WU & WESSELINK ainda em 1993, em revista a literatura sobre infiltração apical ressaltaram a importância destes estudos, uma vez que compreendem a maior parte da pesquisa endodôntica contemporânea e

questionaram a confiabilidade dos resultados devido à falta de standardização na metodologia. Além disso, dados quantitativos obtidos através de medições lineares, após clivagem ou diafanização não fornecem informações consistentes e apresentam grande variabilidade. Os dados quantitativos, conseguidos através de espectrofotometria ou métodos eletroquímicos, são mais reproduzíveis, confiáveis e comparáveis. Os autores concluíram ser imperioso padronizar as metodologias e análises de infiltração antes de continuar avaliando a capacidade seladora de materiais e técnicas com métodos de pouca relevância.

Em 1994 GALE *et al.* propuseram um método computadorizado para medir a distribuição do agente traçador. Os autores fizeram secções seriadas na dentina coronária e criaram um modelo tridimensional de alta resolução. As imagens das secções eram capturadas por um sistema de vídeo ligado a uma lupa estereoscópica com aumento de 22 vezes e armazenadas no formato TIFF em um computador para serem utilizadas, posteriormente, na construção do modelo tridimensional que segundo os autores são essenciais para apreciação adequada dos padrões de infiltração.

AHLBERG *et al.* (1995) comparando os padrões de penetração apical dos corantes azul de metileno e tinta da China concluíram que por apresentar menor peso molecular o azul de metileno penetra mais profundamente que a tinta da Índia, de maior tamanho. Os autores compararam os padrões de penetração da tinta da Índia com a penetração de microrganismos, que mesmo não atingindo profundidade na dentina podem agir a distância, através de endotoxinas, levando a danos pulpare e periapicais.

PATHOMVANICH & EDMUNDS (1996) avaliaram “*in vitro*” as variações nos padrões de microinfiltração, do azul de metileno 2%, produzidos por quatro

metodologias diferentes, a saber: infiltração passiva por 48 horas, centrifugação, infiltração passiva por 48 horas precedida pelo uso de vácuo e infiltração passiva por 48 horas precedida pelo uso de pressão positiva. Os autores utilizaram blocos de resina transparente na expectativa de que modelos estandardizados forneceria resultados mais consistentes. A avaliação da microinfiltração foi através de medições lineares realizadas diretamente em cada uma das faces do bloco de resina sob magnificação de oito vezes. O resultado foi uma ampla variação nos padrões de infiltração, frustrando as expectativas de obtenção de dados mais consistentes com o uso de modelos padronizados. Isto permitiu aos autores sugerirem que técnicas que utilizam secção longitudinal dos espécimes não são convenientes, a menos que o plano de seccionamento revele, coincidentemente, o ponto de penetração máxima. Caso contrário haverá uma falsa impressão de subpenetração. A penetração passiva, utilizada isoladamente, apresentou os piores resultados e não houve diferenças estatisticamente significantes entre as outras técnicas.

DÉJOU *et al.* (1996) estudaram a influência dos critérios de avaliação nos resultados da microinfiltração “*in vitro*”. Das medidas possíveis de serem avaliadas em espécimes infiltrados por marcadores a máxima penetração de corante medida em cada dente parece ser o melhor critério de avaliação.

Neste mesmo ano, HAMAOKA utilizou o sistema de análise de imagens DIRACOM3 na avaliação do comportamento de três corantes, azul de metileno 0,5% pH 7,2; rodamina B 1% e tinta da China, frente à infiltração nos diferentes terços radiculares. A análise através deste método é quantitativa e verifica o percentual de penetração em função das tonalidades quantificada pelos pixels dos valores das cores. A autora concluiu que os corantes apresentam medias diferentes e estatisticamente significantes entre si, com os melhores resultados associados ao

uso da rodamina B em todos os terços.

CHAILERTVANITKUL *et al.* (1997) utilizaram um marcador polimicrobiano “*in vitro*” para avaliar os efeitos da infiltração coronária, após um longo período de estocagem, tendo como fonte de variação dois cimentos obturadores endodônticos. Os autores sugeriram que traçadores microbianos são clinicamente mais relevantes que estudos com soluções corantes. A avaliação da infiltração foi determinada através do turvamento do meio de cultura na câmara apical dos espécimes, indicando desta forma crescimento bacteriano.

Em 1998 YOUNGSON *et al.* avaliaram através de penetração passiva, por uma hora, a infiltração na dentina coronária em cavidades preparadas por quatro traçadores, tamponados em pH neutro e não tamponados, comumente utilizados em estudos de infiltração: solução aquosa de eosina 5%, solução aquosa de azul de metileno 2%, nitrato de prata 50% e tinta da China. Os dentes foram seccionados longitudinalmente e analisados digitalmente no aparato de imagens Magiscan 2. A área infiltrada era delimitada pelo operador. Na tentativa de verificar a influência do resfriamento com água durante a secção dos espécimes no espalhamento do corante algumas amostras foram seccionadas através de fratura. Os autores defenderam estudos de infiltração usando soluções corantes como traçadores pela facilidade relativa com que podem ser estocados, aplicados e testados em sua penetração. Concluíram que nem os traçadores usados, o pH ou a técnica de seccionamento teve um efeito significativo previsível na penetração dentinária. A desmineralização gerada com o uso de solução não tamponada de azul de metileno foi considerada insignificante para este tempo experimental.

GALE & DARVELL em 1999 realizaram uma revisão em 249 artigos relacionados à permeabilidade dentinária e testes com agentes traçadores.

Revisaram as evidências anatômicas, fisiológicas e patológicas que comprovam a permeabilidade desta estrutura. Sugeriram o cianoacrilato de etila como impermeabilizante e observaram que a infiltração de microrganismos pode não fornecer resultados consistentes quando a camada de *smear layer* não é removida.

Neste mesmo ano de 1999, FRÓIS avaliou a influência do conteúdo dos canais radiculares na permeabilidade da dentina radicular utilizando infiltração de azul de metileno 2% por 12 horas a 37°C. Para analisar a infiltração cortes transversais dos canais foram digitalizados e trabalhados no *software* de análise de imagem ImageLab que permite o processamento e o cálculo de parâmetros, como determinação de área e perímetro de imagens digitalizadas. Foi calculado o percentual das áreas coradas em relação à área radicular. A autora defendeu a técnica por acreditar que esta impossibilita erros por parte do operador.

Ainda em 1999, BARTHEL *et al.* compararam a infiltração bacteriana “*in vitro*” com infiltração por um corante, a fucsina básica em raízes tratadas endodonticamente. Concluíram que características dos traçadores microbianos como pH, carga iônica, habilidade e viabilidade bacterianas em mudarem de forma, multiplicarem-se, crescerem e apresentarem movimentação ativa não podem ser representados pelas soluções corantes e que o tamanho molecular do agente traçador pode não ser um parâmetro correto a ser procurado para avaliar compactação de materiais e técnicas obturadoras.

PALAMARA *et al.* (2000) utilizaram avaliação digital da imagem de secções de dentina para verificar a orientação tubular da mesma. As imagens obtidas, com auxílio de uma câmara acoplada a um microscópio óptico, foram submetidas ao tratamento de imagem com o *software* Bioscan que oferece grande precisão na análise obtida em alta resolução.

WIMONCHIT *et al.* (2002), usando três metodologias distintas, avaliaram a microinfiltração coronal em dentes tratados endodonticamente. Os autores compararam a infiltração passiva de solução corante, tinta da Índia, à aplicação de vácuo e filtração de fluidos. A análise da infiltração foi realizada através de medição linear nos espécimes diafanizados. Concluíram que a aplicação do vácuo apresenta diferença estatisticamente significativa em relação às demais metodologias que se equivaleram.

SKELTON MACEDO (2003) avaliou comparativamente três métodos de leitura relacionados à análise da infiltração de corante na dentina radicular humana. O agente traçador de escolha foi o azul de metileno em solução aquosa tamponada nas concentrações de 0,5% e 2%. A metodologia empregada foi infiltração passiva por 24 e 48 horas a 37°C. Os espécimes foram seccionados no sentido longitudinal e digitalizados, com auxílio de câmera fotográfica digital, no formato TIFF. A autora comparou o método de análise de infiltração linear proposto por MARSHALL *et al.* (1960), com uma pequena variação em que a área de infiltração era calculada a partir de uma imagem impressa em papel milimetrado, com dois métodos digitalizados: mapeamento de cor pelo *software* Leica Qwin e cálculo da área corada através do *software* ImageLab. O *software* Leica Qwin calcula a área alcançada pelo corante a partir da determinação digital de nuances da cor azul. No *software* Image Lab o cálculo da área corada é feito a partir da delimitação manual de nuances da cor azul visíveis no monitor. Baseada nas análises comparativas das interações entre concentração do corante e tempos experimentais a autora não encontrou diferenças estatisticamente significantes. Relatou ainda que as críticas a estudos de permeabilidade dentinária utilizando corantes como traçadores em geral não apresentam consistência científica. Sugere a realização de mais estudos que

viabilizem a standardização de um método viável, de fácil e rápida execução que proporcionem resultados comparáveis e confiáveis. E conclui que os métodos de leitura propostos são comparáveis nos resultados, podendo utilizar quaisquer deles ao avaliar a área de dentina infiltrada, na dependência da acessibilidade aos métodos digitais.

FERREIRA (2006) quantificou “*in vitro*” áreas de infiltração do azul de metileno 0,5% nos diferentes terços radiculares empregando seis diferentes formas de impregnação: vibração ultra-sônica (29 KHz) durante 10 minutos nos canais preenchidos com o traçador e posterior imersão por 24 horas; imersão passiva dos espécimes no corante por 24 horas precedida por vibração em cuba ultra-sônica (40 KHz) durante 10 minutos; imersão passiva dos espécimes no corante por 24 horas; aplicação de vácuo a 25 mmHg por 10 minutos e imersão passiva no corante por 24 horas, imersão passiva no traçador a aplicação de 650 mmHg de vácuo por 24 horas e imersão no corante por 24 horas após obtenção de 30 mmHg de vácuo mantidos por 24 horas. Para análise das áreas infiltradas os espécimes foram seccionados longitudinalmente e fotografadas com auxílio de câmera digital no formato TIFF. As áreas infiltradas nos diferentes terços radiculares foram avaliadas com auxílio do *software* Leica Qwin. A autora conclui que relativo à metodologia de impregnação não houve notoriedade para nenhuma condição testada. E ressalta a consagrada diferença de permeabilidade entre os terços cervical, médio e apical de dentes humanos.

2.6 Imagens Digitais

O termo imagem digital refere-se ao processo de transformar imagens em dados digitais, que podem reproduzir fielmente o objeto real. Esta tecnologia é um

subproduto da guerra fria e da exploração espacial, quando havia a necessidade de enviar imagens captadas em locais distantes para os centros de pesquisa.

LEMOS *et al.* (2002) descreveram as formas de obtenção da imagem digital observando que as câmeras digitais são bastante eficientes. Os autores ressaltaram vantagens nos usos em Odontologia dos recursos de manipulação e processamento de imagens digitais, como filtros, realces de bordas abrindo novas perspectivas aplicadas ao diagnóstico por imagem e em pesquisas como, por exemplo, ensaios de infiltração de corantes, que aliados ao desenvolvimento de *softwares* capazes de mensurar distâncias em imagens digitais podem analisar e calcular áreas.

As câmeras digitais através de diodos fotossensíveis (fotocélulas) contidos em um chip de silício captam a intensidade ou brilho da luz e armazenam como uma série de números binários que serão posteriormente usados para reconstruir a cor e o brilho de cada ponto nas várias formas de saída para a imagem digitalizada, ou seja, reprodução em monitor ou impressões.

A luz é uma forma de energia eletromagnética que se propaga a partir de uma fonte em movimentos retilíneos, descrevendo ciclos em forma de ondas regulares que vibram perpendicularmente à direção de sua propagação. Vista pelos olhos humanos, a luz constitui uma faixa relativamente estreita de sua energia irradiada, distribuída entre 400 e 700 nm. Esta faixa constitui o espectro visível e dentro dele cada comprimento de onda produz um estímulo diferente na parte posterior dos olhos, promovendo a percepção das cores. O olho humano percebe cerca de 30 níveis de cinza e sete milhões de cores. Ele é mais sensível ao verde, depois ao vermelho, e menos ao azul, porém percebe mais variações de azul, depois de vermelho e menos de verde.

Em física a cor pode ser definida através de três grandezas: intensidade, matiz e saturação. A intensidade está associada com o brilho da luz, o matiz com o comprimento de onda dominante e a saturação com o grau de pureza (ou intensidade) do matiz.

NEGRAES (2002) conceituando imagens digitais comentou que são a representação abstrata de um objeto ou cena real formada por números dispostos em matriz. Pequenos pontos, os elementos de imagem (*picture elements* ou *picture cells*) conhecidos por pixels são os menores elementos que compõe a imagem digital. As imagens digitais são divididas em linhas e colunas de pontos. A interseção de uma linha com uma coluna representa um pixel. Cada pixel possui apenas uma cor e não apresenta dimensões fixas, o tamanho será atribuído no momento do uso da imagem. Digitalmente todas as cores são formadas a partir da combinação de três cores básicas: vermelho (red: R), verde (green:V) e azul (blue:B). Cada pixel pode “codificar” a cor que recebe (R, G ou B) exibindo até 256 tonalidades diferentes. Ao combinar as tonalidades de cada uma das três cores é possível exibir até 16 milhões de cores diferentes dependendo de quantos bits, que são unidades de informação eletrônica, disponha para tanto.

O contorno de uma estrutura na imagem é representado pela diferença de cor entre um pixel e seu vizinho. As bordas são regiões da imagem onde os valores de cores entre pixels vizinhos mudam abruptamente. Se a diferença de cor é pequena o contorno fica pouco perceptível. O olho humano é limitado no reconhecimento de tons próximos. O contraste está relacionado com a diferença de tons das cores que compõe uma imagem. Quanto maior a diferença entre os tons da imagem, maior o contraste. O sistema visual humano diferencia com mais facilidade cores de tonalidades bem distintas. Cada pixel é capturado por uma única fotocélula,

assim a quantidade de fotocélulas é que determina o número de pixels em uma imagem, e conseqüentemente sua resolução, que é a relação entre nitidez e tamanho da imagem.

IGLESIAS (2002) conceituou resolução como sendo o menor detalhe da realidade que se consegue reproduzir em forma de imagem sobre um suporte físico (papel, tela ou monitor). Comentou ainda que em imagem digital, quanto maior o número de pixels e menores suas dimensões mais pormenores poderão ser reproduzidos, ou seja, melhor a resolução e maior o tamanho do arquivo resultante. Comentou ainda que além da resolução outro fator que influencia na qualidade da imagem é a profundidade de cor.

ALECRIM (2003) definiu profundidade de cor como o termo que descreve o número de bits usados para representar a cor em cada pixel, ou seja, número de cores e tons. Quanto maior a profundidade de cores, a transição entre um pixel e outro é mais sutil. A imagem fica mais rica em tonalidades, além de mais nítida e contínua. Exemplificando, uma foto com 1 bit é monocromática, geralmente branco e preto. Se a imagem tiver 2 bits, terá 4 cores (2^2), 8 bits correspondem a 256 cores. Uma imagem com 24 bits, usa 8 bits para cada componente RGB (as três cores primárias no mundo digital). Os 256 tons de cada uma dessas três cores podem ser combinados para resultar em 16.777.216 cores.

As imagens digitais são armazenadas em arquivos de *bitmaps* (mapa de bits) e para manterem a qualidade da imagem capturada devem conter informações precisas sobre cada pixel e cores. Assim, arquivos produzidos são muito grandes. Para solucionar este problema pode-se lançar mão da compressão de imagens que se baseia em desprezar informações redundantes ou desnecessárias para diminuir o espaço ocupado pela imagem.

MARMION (2006) definiu compressão como uma técnica que garante, mediante aplicação de algoritmos matemáticos, uma imagem similar a original, mas cujo tamanho, em pixels é menor e, portanto, ocupa menos espaço facilitando desta forma o transporte e armazenagem das imagens. Há dois tipos de compressão: com perda (“*loosy*”) e sem perdas (“*lossless*”). Algoritmos com perda aproveitam-se das limitações da visão humana para suprimir informações redundantes. Os algoritmos sem perda comprimem a imagem mantendo a qualidade, porém não proporciona redução significativa do arquivo. Atualmente a maioria das câmeras digitais pode salvar as imagens capturadas em dois formatos de arquivos: TIFF e JPEG. Algumas câmeras profissionais são capazes de salvar as imagens no modo original em que a imagem foi capturada, conhecido como formato RAW.

O formato RAW (do inglês: cru, natural) possibilita maior aproximação da imagem capturada com a imagem real. Seu uso é indicado em trabalhos que exijam resolução máxima e deve haver fidelidade cromática ao objeto fotografado. Depois de aberta e otimizada no computador, que apresenta maior capacidade de processamento que a câmera digital, a imagem deverá ser salva em outro formato para poder ser utilizada.

O formato TIFF, acrônimo de *Tagged Image File Format*, permite o registro de imagens comprimidas por um algoritmo sem perdas. A imagem resultante possui qualidade e fidelidade de cores uma vez que este arquivo suporta profundidade de cores de 32 bits. É o formato de escolha para impressos, por apresenta maior definição.

O formato JPEG (*Joint Photographers Experts Group*) é o mais popular destes. Produz registros de boa qualidade, variação cromática e os arquivos resultantes são menores que aqueles produzidos em RAW ou TIFF. Ocorre uma

perda sensível de informação traduzida pela degradação de cor, perda de nitidez e contornos. As imagens em JPEG são de 24 bits e usam algoritmos de compressão que reduzem significativamente o tamanho físico do arquivo. As altas taxas de compressão devem-se ao fato de partes da imagem invisível aos olhos humanos serem descartadas, ou seja, por mais que este formato permita utilização de 16,8 milhões de cores o olho humano só é capaz de distinguir em torno de sete milhões, assim, informações redundantes podem ser removidas sem representar perdas na qualidade. Os arquivos JPEG podem apresentar diferentes níveis de compressão, quanto mais informação for retirada, maior a compressão e pior a qualidade final. Este arquivo tende suavizar as variações de cor e por isto não funciona bem em imagens que apresentem transições rápidas de cor ou linha muito bem definidas e áreas de cor uniforme.

Para JUGDAR (2007), a escolha do formato do arquivo de uma imagem digital dependerá do uso que se queira dar a ela. A exigência de resolução é variável para cada aplicação: a impressão exige resoluções que ofereçam maior definição. Usos na Internet exigem arquivos pequenos, com menor resolução.

Tendo em vista o exposto nesta revisão, referente à preocupação com a padronização metodológica de técnicas de impregnação e leitura dos resultados nos testes de infiltração, considera-se relevante a busca pela equalização dos métodos com objetivo de obter resultados confiáveis e comparáveis nas diversas publicações.

3. PROPOSIÇÃO

Neste estudo propõe-se avaliar comparativamente medições de áreas de dentina humana corada por solução de azul de metileno 0,5% sob três formas de impregnação e leitura em dois formatos de arquivos digitais TIFF e JPEG com auxílio do *software* ImageLab 2.3.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

- adaptador metálico em forma de T;
- adesivo vedante, borracha de silicone acético incolor (Flexite - Alba Adesivos Ind. e Com. Ltda., Boituva, São Paulo);
- água destilada;
- agulhas hipodérmicas (BD, Curitiba, Paraná);
- agulhas de irrigação - Endo Eze 31 Gauge (Ultradent Inc., E.U.A.);
- balança analítica de precisão Mettler Toledo (Brasil);
- bomba elétrica limpador de pára-brisa automotivo 12V (Élice Ind. e Com. Ltda., São Paulo);
- bomba vácuo (Dabi-atlante, Ribeirão Preto, São Paulo);
- braçadeiras metálicas $\frac{3}{4}$;
- brocas Gates-Glidden nº 2, 3 e 4 de 28 mm (Maillefer, Suíça);
- cânulas para aspiração - Capillary Tips (Ultradent Inc., U.S.A.);
- cânulas metálicas de aspiração sem bisel 40:20 (BD, Curitiba, Paraná);
- cartão cinza 18% Kodak (Kodak Gray Cards - R-27);
- cera utilidade;
- cianoacrilato de etila - SuperBonder (Loctite do Brasil Ltda., São Paulo);

- cones de papel absorvente (Tanari Industrial Ltda., Manaus, Amazonas);
- corante Azul de Metileno Ref. M9 140 (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, U.S.A.);
- vinte dentes pré-molares;
- disco diamantado dupla face (KG Sorensen Ind. e Com. Ltda., Barueri, São Paulo);
- EDTA-T a 17% (Oficinalis, Farmácia de Manipulação, São Paulo);
- endo PTC, gel lubrificante (Fórmula e Ação - Farmácia de Manipulação, São Paulo);
- espátula de inserção nº 1 (Duflex / SSWhite, Rio de Janeiro);
- estilete;
- explorador reto nº 47 (Duflex / SSWhite, Rio de Janeiro);
- flash Circular Canon Macro Ring Lite MR-14EX;
- fio ortodôntico Ø 0,30 mm, Ref. 55.01.030 (Morelli, Sorocaba, São Paulo);
- fita isolante (3M do Brasil, Sumaré, São Paulo);
- fonte estabilizadora de voltagem DC 12V. Entrada: 110/220V 50-60Hz; Saída: DC 12V - 36W (Nodaji, São Paulo);
- frascos de 1L, branco leitoso;
- hipoclorito de Sódio a 1% (Fórmula e Ação, Farmácia de Manipulação, São Paulo);

- incubadora de temperatura constante 37°C. (Perfom, Contagem, Minas Gerais);
- intermediário metálico para aspiração (Metalúrgica Fava, Barueri, São Paulo);
- lente Canon EFs 60mm f/2.8 USM Macro Lens;
- limas tipo K de 21 mm (Maillefer, Swiss);
- limas tipo Flexofile de 21 mm (Maillefer, Swiss);
- máquina Fotográfica digital Canon EOS 20D;
- mangueira de PVC cristal 3/4", (Magbor Comércio de borracha Ltda., Rio de Janeiro);
- mangueira de PVC cristal 1/2", (Magbor Comércio de borracha Ltda., Rio de Janeiro);
- micromotor, contra-ângulo e peça de reta (Dabi-Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo);
- microscópio Cirúrgico - MC-M-903 (DF Vasconcellos S.A., São Paulo);
- redutor metálico;
- régua acrílica;
- régua milimetrada Trident Desetec modelo 7115;
- régua metálica milimetrada (Dentsply – Maillefer, Swiss);
- reservatório de água para radiador automotivo G-1201 (Gonel Ind. e Com. Ltda., São Paulo);
- restaurador provisório Cavit (Septodont, França);

- seringas descartáveis de 10 cc (BD Plastipak, Curitiba, Paraná);
- *software* ImageLab 2.3 (Departamento de Patologia da FOUASP - São Paulo);
- solução salina a 0,9%;
- tripé para suporte Manfrotto 055 PRO;
- toalhas de papel absorventes (Melhoramentos, São Paulo).

4.2 Métodos

4.2.1 Seleção e Preparo da Amostra

Os espécimes utilizados neste estudo foram doados por colegas cirurgiões dentistas que por ventura mantiveram armazenados dentes extraídos de seus pacientes particulares (ANEXO 1). Foram selecionados 30 dentes pré-molares inferiores humanos, semelhantes morfológicamente, unirradiculares, com raízes íntegras sem sinal de fraturas ou trincas, com canal único, livre de calcificações, sem tratamento endodôntico, ápice completamente formado e coincidente com o forame apical. São desconhecidos os dados relativos à idade, sexo ou razão da exodontia.

Selecionada a amostra os espécimes foram limpos com auxílio de ultrassom e re-hidratados por 48 horas em solução fisiológica 0,9% à temperatura constante de 37°C, com o objetivo de igualar o padrão de hidratação para todos os espécimes.

Após este período, as coroas foram cortadas com auxílio de um disco de diamante montado em peça de mão.

4.2.2 Preparo Químico - Cirúrgico

Os canais radiculares foram esvaziados utilizando-se limas tipo Flexofile de 21 mm, nº 10 ou 15, associados á irrigação de hipoclorito de sódio 1% a 37°C.

O comprimento real de trabalho foi obtido através da inserção de uma lima tipo Flexofile nº 15 no canal radicular até que fosse visualizada justaposta ao forame apical recuando-se 1 mm desta medida.

Os terços cervicais e médios, neste sentido, foram preparados com brocas de Gates Glidden na seqüência dos números 4, 3, e 2 intercalando-se a cada troca de instrumento uma irrigação com 3 mL de hipoclorito de sódio 1% a 37°C.

A porção apical dos canais foi preparada com limas tipo Flexofile em uma seqüência seriada compatível com o diâmetro apical de cada espécime, até atingir no mínimo um instrumento de nº 40. Estas limas foram utilizadas por no máximo três vezes. O forame apical foi desobstruído com um instrumento tipo Flexofile nº 15.

Como substância química auxiliar utilizou-se creme de Endo PTC neutralizado por solução de hipoclorito de sódio 1% aquecido a 37°C. O creme foi levado ao interior do canal com auxílio das limas empregadas no preparo. A cada troca de instrumento os canais foram irrigados com a solução de hipoclorito de sódio 1%, acrescentando-se creme, a fim de manter o regime de efervescência. Esta mesma solução de hipoclorito de sódio 1% foi utilizada copiosamente ao final do preparo, a fim de remover qualquer traço do creme de Endo PTC que pudesse ainda permanecer no interior do canal radicular e confirmar a desobstrução do forame apical observando a passagem de parte do líquido através do forame apical.

O excesso da solução irrigadora foi removido do interior dos canais radiculares com cânulas plásticas de aspiração de pequeno calibre, tipo Capillary

tips.

Em seguida, os espécimes foram irrigados com 3 mL de EDTA-T, mantido por três minutos no interior dos canais radiculares. Passado este período, o excesso da solução foi aspirado e os espécimes foram então mergulhados em solução de hipoclorito de sódio 1% a 37°C, por dez minutos a fim de alcançar a máxima permeabilidade dentinária possível. Posteriormente as raízes foram irrigadas com solução fisiológica 0,9% para eliminação da substância química e então secas com auxílio de aspiração e cones de papel.

Terminada a fase de preparo dos canais os ápices radiculares foram vedados externamente com uma pequena quantidade de cera aquecida. Em seguida, as raízes receberam duas camadas de cianoacrilato de etila (Loctite, Brasil), cobrindo toda a extensão radicular desde a borda cervical até a extremidade apical, inclusive o vedamento com cera. Para tanto, limas endodônticas foram presas através de seus cabos em uma placa de cera utilidade, sendo que as partes serviram de apoio aos espécimes para a aplicação e secagem do impermeabilizante.

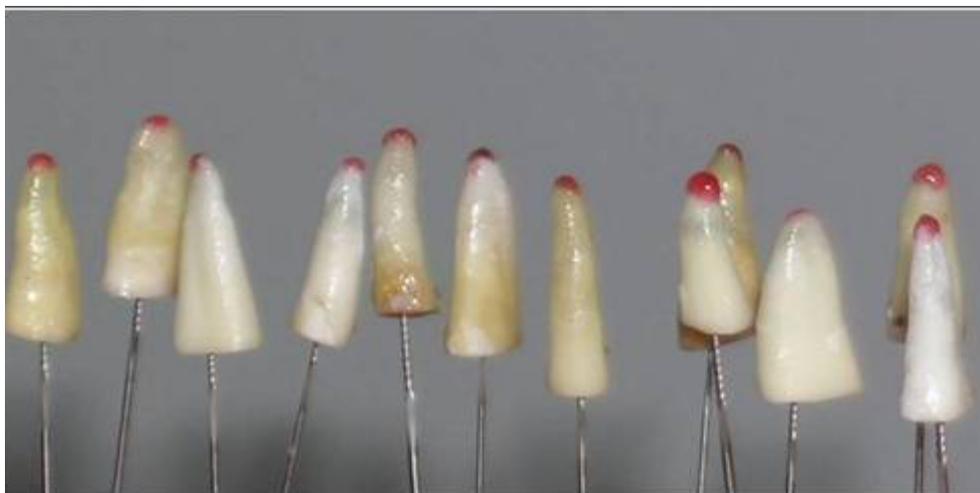


FIGURA 1 - Espécimes impermeabilizados

Terminado o tempo de cura do material os forames apicais foram novamente desobstruídos ultrapassando-se uma lima tipo Kerr nº 20 através do forame, camada de cera e impermeabilizante.

4.2.3 Corante

A solução corante foi obtida diluindo-se cinco gramas de azul de metileno M9 140, pesados em balança analítica de precisão, em um litro de água destilada. A concentração final obtida pela substância foi de 0,5% e após o preparo a solução foi estocada em garrafa branca leitosa ao abrigo de luz a temperatura ambiente.

4.2.4 Preparo do Experimento

Após a impermeabilização e desobstrução dos forames os dentes foram aleatoriamente divididos em três grupos e submetidos à infiltração do azul de metileno 0,5% sob três métodos, a saber: o grupo IP foi submetido à infiltração passiva do corante 24 horas, o segundo grupo, FC3, foi submetido à infiltração ativa da mesma solução por fluxo contínuo de três horas e o último grupo, FC24 recebeu infiltração ativa, também do Azul de metileno 0,5% por 24 horas.

Para que as raízes dos grupos FC3 e FC24 pudessem receber o fluxo contínuo foi desenvolvido um suporte a partir de uma placa acrílica de 7 cm X 3 cm, que foi denominado conjunto seringa / agulha / dente.

Este conjunto foi montado utilizando-se a porção do adaptador Luer de uma seringa descartável de 10 mL cortada na altura de 6 mL sem o êmbolo. Esta parte da seringa foi então envolta e colada com adesivo de silicone e amarrada

metálica, em uma das extremidades da placa acrílica, deixando-se os três centímetros finais da seringa para fora da placa.

Uma agulha descartável sem bisel de aproximadamente 2 cm foi acoplada a seringa.

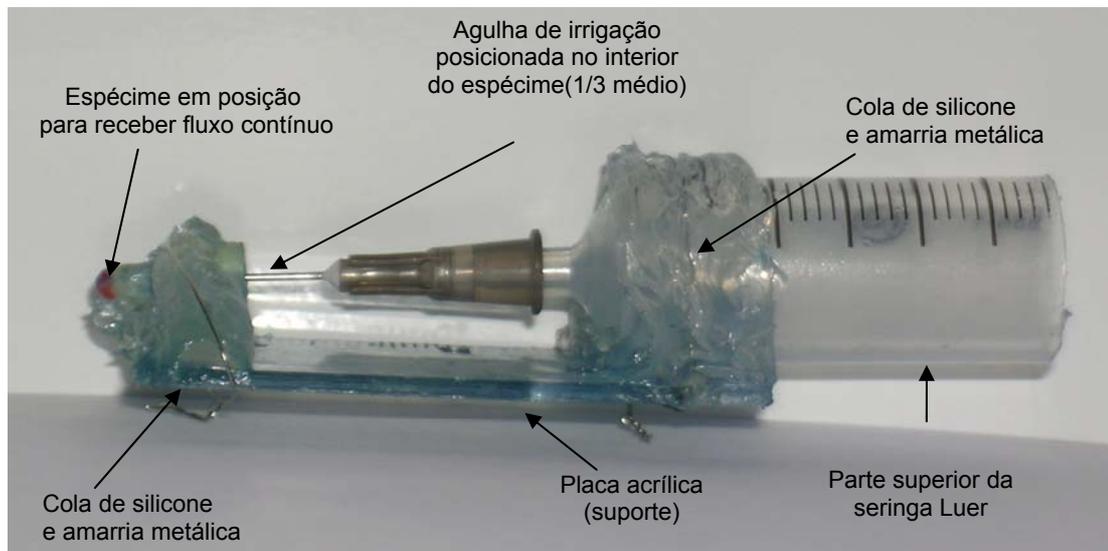


FIGURA 2 - Conjunto seringa/ agulha/ dente

Na outra extremidade da placa acrílica, o espécime foi posicionado de encontro à agulha, de modo que esta penetrasse livremente até o terço médio da raiz. Da mesma maneira que a seringa, o espécime foi envolto e colado à placa acrílica, com adesivo de silicone e amarras metálicas.

4.2.5 Bomba de Fluxo Contínuo



FIGURA 3 - Bomba de Fluxo contínuo sem as mangueiras de irrigação

Para obtenção do fluxo contínuo, o Professor Dr. Marcelo Santos desenvolveu um equipamento a partir de uma bomba elétrica de 12 Voltz usada para irrigação de pára-brisa de automóveis, ligada a uma fonte de 12 Voltz, 3 Â com entrada para 110/220 Voltz. O aparelho foi ajustado para 220 Voltz e ligado à rede elétrica de 110 Voltz, com objetivo de diminuir sua potência.

Esta bomba possui um dispositivo de entrada para captação do líquido e sua expulsão se dá por outro dispositivo de saída.



FIGURA 4 - Bomba de fluxo contínuo com as mangueiras de irrigação

Ao dispositivo de entrada foi conectada uma mangueira de PVC cristal de $\frac{1}{2}$ " e esta a outra mangueira de PVC cristal de $\frac{3}{4}$ ", através de um redutor metálico $\frac{3}{4}$ " para $\frac{1}{2}$ " e braçadeira $\frac{3}{4}$ ". Esta mangueira foi conectada a um reservatório de expansão para radiador automotivo, adaptado para este estudo cortando-se sua parte superior, obtendo assim um reservatório de boca larga com franco acesso a solução irrigadora (azul de metileno 0,5%). O dispositivo de saída, da mesma forma foi conectado a uma mangueira de $\frac{1}{2}$ " que recebeu um adaptador metálico em forma de T, onde foram conectadas outras duas mangueiras também de $\frac{1}{2}$ " com aproximadamente 50 cm de comprimento. Cada uma destas, recebeu em seu terminal um redutor metálico de $\frac{3}{4}$ " para $\frac{1}{2}$ " preso com braçadeira metálica, a uma pequena extensão de mangueira $\frac{3}{4}$ ", que recebeu posteriormente os conjuntos seringa / agulha / dente, presos também com braçadeiras metálicas. Desta maneira, ligando-se a bomba elétrica, a solução irrigadora é captada do reservatório e liberada nos terminais que recebem os conjuntos seringa / agulha / dente.

Posicionando-se os terminais no reservatório de boca larga, obtém-se um ciclo de irrigação contínua, pois o fluxo que é liberado nos conjuntos seringa / agulha / dente, cai no mesmo reservatório que manda a solução para o dispositivo de entrada.

4.2.6 O Experimento

Os espécimes foram divididos aleatoriamente em três grupos de dez dentes.

O grupo IP recebeu Irrigação Passiva da solução de Azul de metileno 0,5%, por 24 horas. Antes, porém, as raízes foram dispostas verticalmente em uma placa de cera utilidade com a porção cervical voltada para cima. Os canais foram preenchidos com o corante, introduzindo-se uma agulha de irrigação próxima ao ápice radicular e injetando-se a solução no sentido cervical até que fosse visualizado todo o preenchimento do canal.



FIGURA 5 - Aplicação do corante por Infiltração Passiva

Só então, os espécimes eram mergulhados em um pequeno reservatório contendo solução de azul de metileno 0,5% e mantidos em estufa á temperatura constante de 37°C, por 24 horas.



FIGURA 6 - Aplicação de corante por Fluxo Contínuo

O grupo FC3 submetido a Fluxo Contínuo da solução de azul de metileno 0,5%, por três horas. Cada conjunto seringa / agulha / dente era preso ao terminal de saída da bomba elétrica por uma braçadeira metálica.

Ligando-se a bomba elétrica, era verificado o fluxo contínuo através dos espécimes e estes posicionados no reservatório de boca larga. Todo o equipamento foi colocado em estufa a temperatura constante de 37°C, por três Os espécimes do grupo FC24 receberam Fluxo Contínuo da solução de azul de metileno 0,5%, por 24 horas. Da mesma maneira que o grupo FC3, cada espécime deste grupo foi colado a um conjunto seringa / agulha / dente e preso ao terminal de saída da bomba elétrica. Acionado o equipamento e verificado o fluxo contínuo através das raízes, todo o conjunto era posicionado no reservatório de boca larga e mantido em estufa a temperatura constante de 37°C, por 24 horas.

Para manutenção da temperatura constante durante o experimento foi utilizado uma incubadora de ovos, construída com fibra plástica de polipropileno e acoplada a um termostato.



FIGURA 7 - Incubadora com controle de temperatura a 37°C

Terminado o tempo experimental, cada espécime era retirado do conjunto seringa / agulha / dente, lavado em água corrente e irrigados com água para remoção do excesso do corante.

A secagem foi realizada com folhas de papel absorvente externamente e com cones de papel absorventes no interior dos canais radiculares.

Neste momento a camada do impermeabilizante foi removida com lâmina de bisturi e os espécimes novamente limpos com folhas de papel absorventes.

Finalizada a limpeza dos espécimes, todos os elementos foram preparados para clivagem, recebendo um sulco longitudinal no sentido vestibulo-lingual, realizado com um disco diamantado dupla face. A clivagem era completada utilizando-se uma lâmina de bisturi com movimento de alavanca. Neste momento cada espécime passou a contar com duas hemipartes.

Cada hemiparte teve o canal radicular preenchido com restaurador provisório para melhor visualização do contorno de infiltração, excluindo-se a área do canal principal. O material foi inserido com auxílio de microscópio óptico com aumento de 16X, utilizando-se curetas de dentina e explorador reto para inserção e aplicadores descartáveis, tipo microbrush para limpeza.

4.2.7 Captura de Imagens

As hemipartes, de cada espécime, foram fotografadas com máquina fotográfica digital, acoplada a lente 60 mm f/2.8 Flash Circular. Para captação destas imagens cada hemiparte foi posicionada horizontalmente, com auxílio de uma pequena porção de cimpat rosa, juntamente com uma régua milimetrada sob um cartão cinza 18%. O conjunto máquina fotográfica/lente/flash circular foi posicionado perpendicularmente em relação ao plano fotográfico com o auxílio de um tripé. A focagem foi realizada na magnificação de 1:1 com uma distância de 0,20 m. O enquadramento foi feito centralizando as hemipartes e posicionando a escala milimetrada da régua no bordo superior do “frame”. O disparo e a captura das imagens foram feitos diretamente pelo computador através do *software Canon Remote Capture*. Os arquivos foram capturados e salvos em dois formatos: *Joint Photographers Experts Group* (JPEG) e RAW. Posteriormente os arquivos RAW foram convertidos em arquivos *Tagged Image File Format* (TIFF) através do plug-in *Adobe Camera RAW Converter 3.6* do *Software Adobe Photoshop CS 2*. Extensões de arquivo JPEG apresentaram um tamanho final variando de 1,17MB a 1,20 MB. Os arquivos em TIFF apresentaram um tamanho de 5,92 MB.

4.2.8 Medição das imagens em Software ImageLab

Após obtenção dos arquivos digitais, nos formatos TIFF e JPEG, realizou-se a medição da área de dentina corada pelo azul de metileno e área total de dentina, com auxílio do software de análises de imagens ImageLab 2.3.



FIGURA 8 - Primeira tela de trabalho do ImageLab. A imagem a ser analisada é aberta e tem seu tamanho adequado ao monitor

Foi necessário adequar o tamanho da imagem à tela do computador e calibrar a unidade de medida. A escala utilizada para ambos os arquivos, TIFF e JPEG, foi de 1:2 mm, permitindo desta forma, a visualização da imagem completa no monitor. O programa permite transformar uma medida conhecida em pixel para milímetros, através de uma ferramenta de calibração métrica.

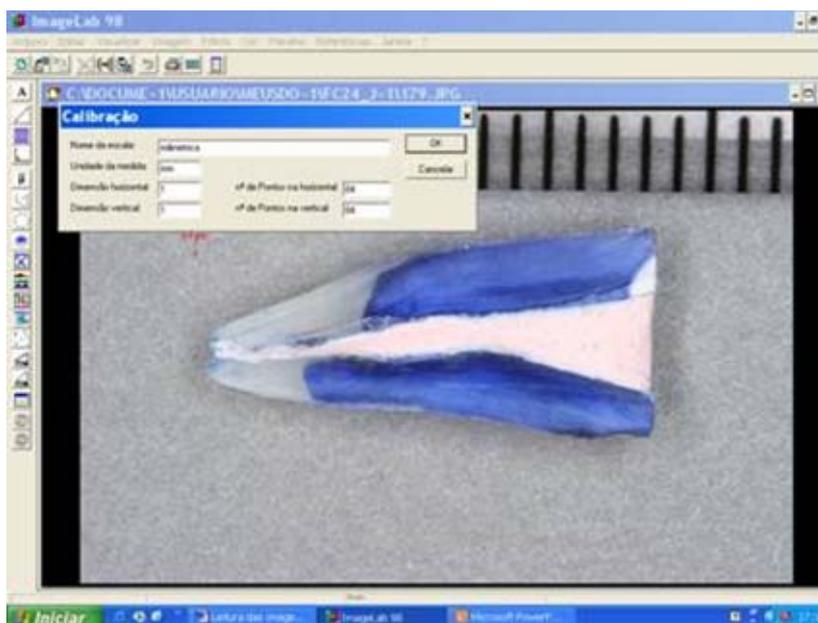


FIGURA 9 - Segunda tela de trabalho do ImageLab. Calibração: ferramenta que permite a conversão de pixel para milímetros

Utilizando um ícone da barra de ferramentas que define regiões na imagem, delimitou-se manualmente as nuances da cor azul visível no monitor em cada hemiparte. A partir desta informação o *software* fornecia a área delimitada em milímetros quadrados, selecionada anteriormente. Foram somadas as medidas obtidas nas hemipartes correspondentes ao mesmo espécime, obtendo-se assim a área total de dentina corada, e área total de dentina.

Foram feitas medições em ambos os arquivos gravados, TIFF e JPEG, de cada espécime. Estes valores foram tratados estatisticamente visando estabelecer os resultados finais.

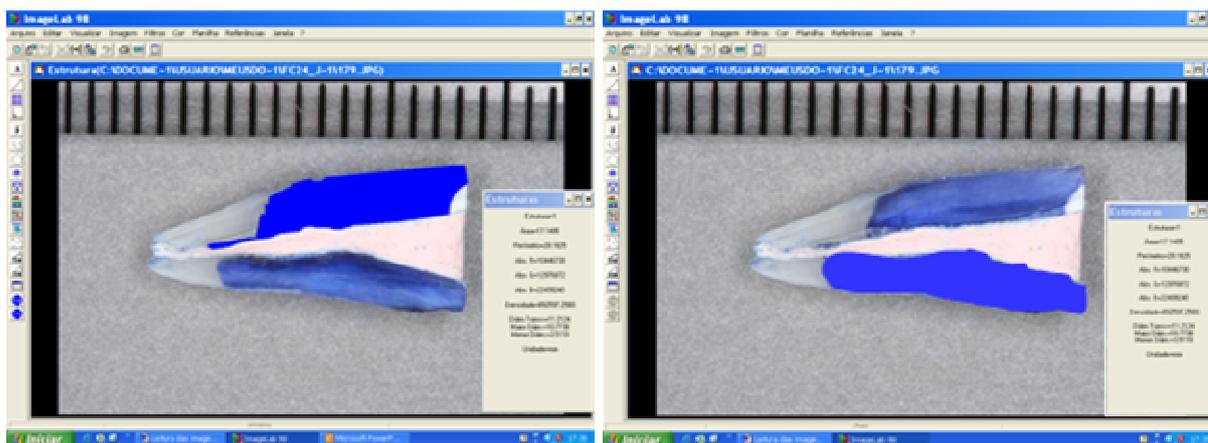


FIGURA 10 - Terceira tela de trabalho do ImageLab. Parte da área a ser avaliada é delimitada e, é pedido ao software que realize a mensuração (em milímetros²)

5. RESULTADOS

Os dados foram obtidos através de um experimento planejado e executado sob os critérios de causalidade necessários. Foram avaliados 30 espécimes (dentes), segundo a metodologia descrita, divididos em três grupos (tratamentos): *FC24*, *FC3* e *IP*. Cada espécime foi submetido a um dos três tratamentos citados, sendo posteriormente clivado e analisado. A análise foi realizada através de um *software*, sob dois formatos diferentes de imagens, TIFF e JPEG. Determinou-se a área total da superfície e a área corada. A partir dessas medidas, foi calculada a proporção corada da área total, estabelecida a partir da seguinte relação:

$$\text{Proporção corada} = \frac{\text{Área corada}}{\text{Área total}}$$

A TAB. 1 define as variáveis usadas na análise.

Tabela 1 - Descrição das variáveis

Variável	Tipo	Escala/Valores
Proporção	Contínua	[0,1]
Tratamento	Discreta	FC24, FC3, IP
Formato	Discreta	TIFF, JPEG

Os valores originais obtidos através das leituras, com auxílio de *software* ImageLab, em cada espécime onde foram determinadas a área total da superfície e a área corada da dentina considerando os diferentes arquivos digitais e tratamentos utilizados encontram-se na TAB. 2 e 3.

Tabela 2 - Medidas em mm² da área total, área corada, proporções e médias de infiltração sob formato de arquivo JPEG

GRUPO	FC 24			FC 3			IP		
	At	Ac	Proporção	At	Ac	Proporção	At	Ac	Proporção
1	119,5767	74,0475	0,6192469	122,1974	93,7473	0,7671792	106,2113	98,4847	0,9272526
2	116,9646	99,3597	0,8494852	137,4945	92,2308	0,6707963	109,9587	94,0295	0,8551347
3	104,7235	67,3304	0,642935	122,7573	85,5196	0,6966559	117,0167	101,1207	0,8641561
4	124,0262	104,7064	0,8442281	131,7831	54,6127	0,4144135	115,2849	74,0323	0,6421682
5	86,3152	69,4178	0,8042361	92,5548	71,5291	0,7728297	95,2859	78,3661	0,8224312
6	102,4178	76,9291	0,7511302	131,5951	60,235	0,4577298	87,0568	76,985	0,8843077
7	96,6067	72,2463	0,7478394	110,3468	57,6544	0,5224837	112,3765	105,8363	0,941801
8	105,9203	80,3375	0,7584712	138,7248	100,6668	0,7256583	88,2531	69,8176	0,7911065
9	99,0893	92,2022	0,930496	104,3071	68,2697	0,6545067	93,7347	66,0102	0,7042237
10	70,161	36,3177	0,5176337	99,2221	77,0587	0,7766284	94,6868	88,6144	0,9358686
Médias	102,58013	77,28946	0,7465702	119,0983	76,15241	0,6458882	101,98654	85,32968	0,836845

Tabela 3 - Medidas em mm² da área total, área corada, proporções e médias de infiltração sob formato de arquivo TIFF

GRUPO	FC 24			FC 3			IP		
	At	Ac	Proporção	At	Ac	Proporção	At	Ac	Proporção
1	118,0636	83,1875	0,704599	120,9938	102,0704	0,8436003	110,5045	94,8485	0,8583225
2	113,3984	102,3497	0,9025674	136,0262	104,3887	0,7674161	108,4321	92,8762	0,8565379
3	103,6352	71,9619	0,694377	121,3072	86,5863	0,7137771	115,4542	99,5032	0,8618413
4	123,0049	106,7966	0,8682304	128,6985	62,8741	0,4885379	114,8967	72,6249	0,6320887
5	84,4651	72,1156	0,8537916	96,9997	65,0164	0,6702742	93,1964	76,0343	0,8158502
6	100,4988	63,6716	0,6335558	130,2647	73,7114	0,5658586	88,6698	74,7617	0,8431473
7	94,0323	75,943	0,8076267	107,4114	79,6378	0,7414278	112,2625	95,8219	0,8535522
8	105,7027	90,2456	0,8537681	138,4363	112,4636	0,8123852	87,4783	68,1539	0,7790949
9	98,599	90,9795	0,9227223	102,1986	73,2378	0,7166223	92,3061	64,778	0,7017738
10	68,3981	43,2002	0,6315994	98,5139	82,7429	0,8399109	92,3913	88,4568	0,9574148
Médias	100,97981	80,04512	0,7872838	118,08503	84,27294	0,7159811	101,55919	82,78594	0,8159623

Os valores referentes à área total e área corada nestas duas tabelas são absolutos. Na análise estatística foram utilizados os dados da coluna proporção. Esta proporção é que interessa na determinação do maior ou menor grau de infiltração observada tanto em arquivo de alta resolução (TIFF) como em arquivo compactado (JPEG).

A TAB. 4 apresenta estatísticas descritivas para a variável Proporção segundo o tratamento e o formato. Pode-se observar que a proporção média para o tratamento FC3 é a menor, e IP a maior, em ambos os formatos. A proporção para o formato TIFF é maior que para JPEG nos tratamentos FC24 e FC3, mas menor em IP. Avaliando os desvios padrões, parece existir maior variabilidade no formato JPEG.

Tabela 4 - Estatística descritiva

Tratamento	Formato	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Primeiro Quartil	Mediana	Terceiro Quartil	Máximo
FC 24	JPEG	0,7466	0,1233	0,5176	0,6370	0,7548	0,8455	0,9305
	TIFF	0,7873	0,1109	0,6316	0,6792	0,8307	0,8768	0,9227
FC 3	JPEG	0,6459	0,1341	0,4144	0,5063	0,6837	0,7686	0,7766
	TIFF	0,7160	0,1158	0,4885	0,6442	0,7290	0,8193	0,8436
IP	JPEG	0,8368	0,1001	0,6422	0,7694	0,8596	0,9294	0,9418
	TIFF	0,8160	0,0918	0,6321	0,7598	0,8483	0,8592	0,9574

O GRAF. 1 mostra o comportamento da variável Proporção quando classificada segundo o tratamento e o formato. Cada caixa representa o grupo observado (sob a legenda indicada). A linha central indica o valor da mediana, os limites da caixa indicam o primeiro quartil (inferior) e o terceiro quartil (superior). Sendo assim, dentro da caixa estão representados 50% da amostra, sendo 25% abaixo da mediana e acima do primeiro quartil, e 25% acima da mediana e abaixo do terceiro quartil. Os asteriscos representam valores considerados discrepantes dos

demais. As hastes se estendem até o valor máximo (haste superior) ou mínimo (haste inferior), desconsiderando os valores discrepantes. Caixas muito grandes sugerem maior variação nos dados. Caixas com a mediana deslocada do centro sugerem assimetria nos dados.

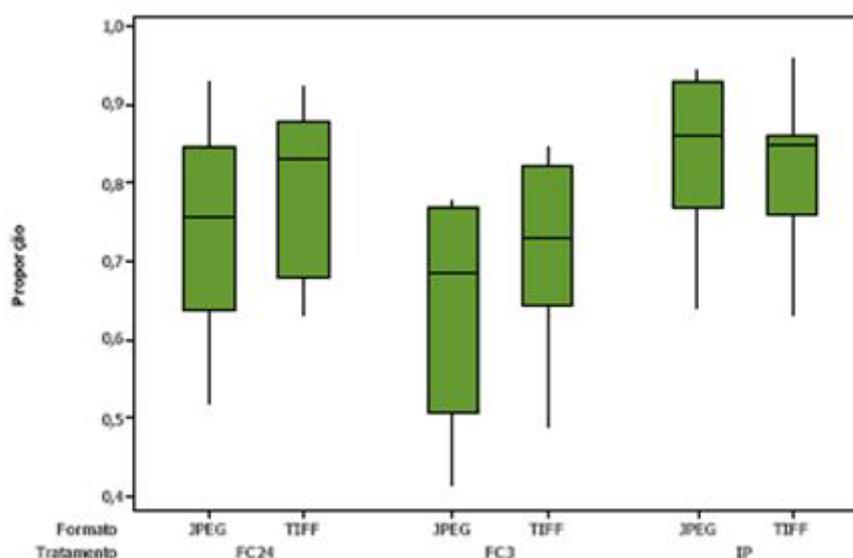


Gráfico 1 - Proporção avaliada segundo tratamento e formato

O Tratamento FC3 parece resultar em maior dispersão dos dados (caixas e hastes longas), em ambos os formatos. Assim como observado na TAB. 1, o tratamento IP apresenta maiores proporções coradas, seguido de FC24 e FC3. Além disso, tanto em FC24 quanto em FC3, o formato TIFF parece apresentar valores maiores. O mesmo não ocorre em IP, que parece apresentar valores similares em ambos os formatos, apesar de existir menor dispersão no formato TIFF acima da mediana.

O objetivo é determinar se existe diferença significativa entre os valores médios da variável Proporção, sob o tratamento empregado. A análise de variância (ANOVA), associada ao método de Tukey, é capaz de fornecer as respostas

desejadas. Os dados satisfazem as suposições necessárias para o emprego desse tipo de análise. Os testes foram realizados ao nível de 5%.

A análise de variância decompõe os dados segundo fontes de variação, como o tratamento, sendo capaz de determinar quais dessas fontes são estatisticamente significativas, ou seja, podem influenciar a resposta, no caso, o valor da Proporção. O método de Tukey, sabendo-se quais das fontes de variação são significativas, é capaz de determinar quais níveis de determinada fonte são estatisticamente diferentes. Para obter os resultados da ANOVA, é necessário construir um modelo, determinando quais fontes serão testadas. Como estavam em teste dois fatores, tratamento e formato foram construídos três modelos, sendo selecionado o modelo em que apenas o fator tratamento mostrou-se significativo (p-valor 0,001). O tipo de arquivo, TIFF ou JPEG, não foi estatisticamente significativo.

Os resultados do método de Tukey são mostrados na TAB. 5.

Tabela 5 - Resultados do Método de Tukey

<i>Nível 1</i>	<i>Nível 2</i>	<i>P-valor</i>	<i>Conclusão</i>
FC3	FC24	0,0506	Não significativa
IP	FC24	0,2291	Não significativa
IP	FC3	0,0004	Significante

6. DISCUSSÃO

A permeabilidade dentinária e suas conseqüências há muito fomentam a pesquisa endodôntica (MARSHALL *et al.*, 1960; ROBAZZA & ANTONIAZZI, 1976; MOURA, 1978; ROBAZZA *et al.*, 1981; MOURA & PAIVA, 1989; SENA, 1990; TAO *et al.*, 1991; PASHLEY, 1991; PASHLEY *et al.*, 1992; GALE & DARVELL, 1999). Justifica-se tal preocupação, pois tanto do ponto de vista do aparecimento, desenvolvimento e manutenção das patologias pulpares e perirradiculares, quanto do ponto de vista da reparação e tratamento destas entidades o conceito de permeabilidade está presente, pois a penetração na dentina de microrganismos, endotoxinas, substâncias químicas, fármacos e impermeabilizantes são fundamentais no desenvolvimento tanto das patologias quanto da terapêutica.

A estrutura tubular da dentina garante a difusão de fluidos responsáveis pela remineralização no processo de cárie além de facilitar a penetração de microrganismos, substâncias tóxicas, soluções irrigadoras e medicação para o interior da massa dentinária e, portanto, dos túbulos dentinários (HAMAOKA, 1995; CARDOSO & SKELTON MACEDO, 2000; ESTRELA, 2004; FERREIRA, 2006).

Durante a fase de limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares o aumento da permeabilidade dentinária é fator extremamente importante, pois objetiva proporcionar maior contato entre substâncias químicas desinfetantes e medicação intracanal com os microrganismos presentes nas irregularidades anatômicas e no interior dos túbulos dentinários. Após desinfecção o sistema de canais deve ser hermeticamente selado, prevenindo a reinfecção e conseqüente manutenção do processo infeccioso. Túbulos dentinários livres de sujidades

permitem a penetração do cimento obturador contribuindo com um melhor vedamento. Isto diminui a possibilidade de bactérias que sobreviveram ao preparo químico mecânico perpetuarem um processo infeccioso (GUTIÉRREZ *et al.*, 1990; BARROSO *et al.*, 2002; TORABINEJAD *et al.*, 2002). Idealmente, o que se busca no preparo químico cirúrgico é um aumento da permeabilidade dentinária durante a fase de desinfecção e modelagem do sistema de canais radiculares e a total eliminação desta no momento da obturação e restauração do elemento dental.

A busca por substâncias químicas auxiliares da desinfecção da dentina e do sistema de canais radiculares, bem como técnicas e materiais que promovam vedamento tridimensional da interface dente/restauração e material obturador/paredes do canal radicular à penetração de microrganismos, seus metabólitos e fluidos teciduais é de fundamental importância na prática clínica, pois os efeitos deletérios da infiltração estão bem documentados na literatura e respaldam as pesquisas no campo da microinfiltração que compreendem grande parte da pesquisa endodôntica contemporânea (OPPENHEIMER & ROSENBERG, 1979; PITT FORD, 1983; GOLDMAN *et al.*, 1989; TAYLOR & LYNCH 1992; WU & WESSELINK, 1993; CARDOSO & SKELTON MACEDO, 2000; SIQUEIRA, 2004). A literatura descreve ampla variedade de técnicas experimentais e metodologias de leitura capazes de determinar qualitativa e quantitativamente, a microinfiltração: condutância hidráulica (PASHLEY, 1974; PASHLEY, 1996), penetração de agentes traçadores (FISH, 1933; DOE & INGLE, 1955; MARSHALL *et al.*, 1960; GOING, 1960; ANTONIAZZI *et al.*, 1968; ROBAZZA & ANTONIAZZI, 1976; OPPENHEIMER & ROSENBERG, 1979; ROBAZZA *et al.*, 1981; MATLOFF *et al.*, 1982; PITT FORD, 1983; TROWBRIDGE, 1987; GLYN JONES & YOUNGSON, 1988; MOURA & PAIVA, 1989; GOLDMAN *et al.*, 1989; YOUNGSON *et al.*, 1990; OLIVER &

ABBOTT, 1991; PATHOMVANICH & EDMUNDS, 1996; HAMAOKA, 1995; YOUNGSON *et al.*, 1998; BARTHEL *et al.*, 1999; SKELTON MACEDO, 2003; FERREIRA, 2006), espectrofotometria (ZAKARIASEN *et al.*, 1981; MADISON & ZAKARIASEN, 1984) e eletroquímica (JACOBSON E VON FRAUNHOFER, 1976; DELIVANIS & CHAPMAN, 1982; KARAGENÇ, 2006).

Apesar da ampla utilização, especialmente na pesquisa endodôntica, os métodos de impregnação da dentina humana por um agente traçador sofrem críticas e têm a confiabilidade dos resultados questionada devido à falta de padronização metodológica em questões fundamentais como: tipo de corante utilizado apresentando diferentes tamanhos e formas de partículas além de pesos moleculares e concentrações diversas, pH da solução, tempo experimental de imersão, forma de aplicação do agente traçador tornando difícil à comparação entre técnicas semelhantes gerando resultados muitas vezes inconsistentes (ANTONIAZZI *et al.*, 1968; ROBAZZA & ANTONIAZZI, 1976; GOLDMAN *et al.*, 1989; YOUNGSON *et al.*, 1990; OLIVER & ABBOTT, 1991; TAYLOR & LYNCH, 1992; STARKEY *et al.*, 1993; WU & WESSELINK, 1993; AHLBERG *et al.*, 1995; HAMAOKA, 1995; PATHOMVANICH & EDMUNDS; 1996).

Segundo observações de SKELTON MACEDO (2003), os testes envolvendo corantes foram duramente criticados e pobremente analisados. Ainda assim, as publicações, em sua grande maioria, utilizam infiltração de corantes como agentes traçadores.

O azul de metileno está entre os mais utilizados devido facilidades técnicas como custo acessível, reconhecida capacidade de penetração em dentina produzindo áreas de cor distinta sem a necessidade de posteriores reações químicas ou exposição à radiação o que permite leitura direta da área demarcada,

além de não ser facilmente removido quando o espécime infiltrado necessita ser submetido a desgastes com lâminas ou lixas sob refrigeração (TAYLOR & LYNCH, 1992; YOUNGSON, 1992; WU & WESSELINK, 1993; STARKEY *et al.*, 1993, YOUNGSON *et al.*, 1998; GALE & DARVELL, 1999).

Embasados nestas informações, encontradas na literatura, elegeu-se para este trabalho o azul de metileno como traçador. A concentração 0,5% do corante azul de metileno e tempo experimental de 24 horas utilizados neste estudo baseou-se no trabalho de SKELTON MACEDO (2003), que não obteve diferenças estatisticamente significantes em seus resultados ao comparar as concentrações de 0,5% e 2% e os tempos de 24 horas e 48 horas de contato. Esta concentração, de 0,5%, ainda foi utilizada por ANTONIAZZI *et al.* (1968), ROBAZZA *et al.* (1981), MOURA & PAIVA (1989), HAMAOKA (1995) e FERREIRA (2006). O tempo de exposição de 24 horas esta também de acordo com o sugerido por GOING *et al.* (1960) que comparou tempos de 1 hora, 24 horas e 1 semana concluindo que 24 horas de contato do corante com o espécime são suficientes para promover máxima difusão através da dentina.

Em estudo piloto para a determinação da metodologia deste trabalho notou-se não ser possível tamponar a solução corante conforme recomendado por ANTONIAZZI *et al.* (1968), pois durante poucos minutos de funcionamento da bomba de recirculação de fluídos, a solução tamponada tornava-se muito espessa, entupindo as agulhas de saída que levam o corante para o interior dos espécimes. Tal fenômeno não foi observado ao utilizar-se uma solução não tamponada, com pH ácido entre 3,75 e 4. Independente do caráter levemente ácido da solução corante empregada ocorreu infiltração marcante em todos os espécimes, resultados estes em conformidade com os de STARKEY *et al.* (1993) que ao avaliar os efeitos das

variações de pH do corante azul de metileno não encontraram diferenças estatisticamente significantes relativas à quantidade de infiltração entre os diferentes grupos de pH. Também YOUNGSON *et al.* (1998) concluíram que o pH não tem um efeito significativo previsível na penetração dentinária, e ainda que a desmineralização gerada com uso de solução não tamponada do corante foi insignificante para tempos experimentais curtos.

Questionamentos relativos ao tamanho das partículas do corante em função do tamanho dos microrganismos e seus subprodutos não invalidam as pesquisas que utilizam corantes, já que possivelmente estes alcancem maior infiltração que os microrganismos (OPPENHEIMER & ROSENBERG, 1979; KERSTEN & MOORER, 1989; AHLBERG *et al.*, 1995). Além disso, WU & WESSELINK (1993) observaram que partículas menores que os microrganismos como, por exemplo, açúcares podem alcançá-los, fornecendo nutrientes para manutenção de um processo infeccioso.

Com relação à metodologia de aplicação do corante a mais utilizada segundo a literatura é a infiltração passiva do agente traçador. GOLDMAN *et al.* (1989) lançaram dúvidas sobre técnicas que não utilizam aplicação de vácuo anteriormente a imersão dos espécimes em corante. Os autores utilizaram cristal violeta como indicador, raramente utilizado em pesquisas endodônticas e portanto de comportamento pouco estudado em avaliações de infiltração além do curto período de tempo que os espécimes ficaram em contato com a solução, apenas três horas sob infiltração passiva, sem justificativa para este tempo de contato com o agente traçador.

Também os resultados de OLIVER & ABBOT (1991) demonstraram superioridade na infiltração promovida com auxílio de vácuo e centrifugação, porém

os autores utilizaram como substrato tubos capilares de propriedades físico-químicas muito distintas da dentina. Os autores sugeriram que resultados semelhantes aos obtidos através da centrifugação podem ser alcançados com infiltração passiva desde que os espécimes sejam imersos em profundidade maior de solução corante, pois a solução reveladora poderá penetrar qualquer espaço vazio presente por uma modificação na ação de capilaridade, ou seja, o traçador irá penetrar até que a pressão parcial das bolhas de ar seja equivalente à pressão hidrostática exercida pelo peso da solução.

STARKEY *et al.* (1993) e WIMONCHIT *et al.* (2002), também advogam a superioridade dos resultados ao observarem a impregnação sob vácuo perante a forma passiva.

Os resultados de FERREIRA (2006), contrários a estes, demonstraram que nenhuma condição experimental foi melhor que outra ao avaliar metodologias de impregnação da dentina pelo traçador azul de metileno 0,5% utilizando seis métodos distintos com auxílio de agitação ultra-sônica, aplicação de vácuo e imersão passiva dos espécimes em solução corante. Seus resultados, com relação à aplicação do vácuo corroboram com os de DICKSON & PETERS (1993).

Com objetivo de minimizar as críticas sofridas pela técnica de infiltração de corantes, propostas foram feitas ao longo do tempo. Pesquisas propuseram o uso de vácuo (GOLDMAN *et al.*, 1989; OLIVER & ABBOTT, 1991; DICKSON & PETERS, 1993) esperando aumentar e melhorar os padrões de infiltração, sem sucesso. PATHOMVANICH & EDMUNDS (1996) compararam quatro metodologias diferentes, entre elas infiltração passiva, centrifugação, vácuo e pressão positiva, não encontrando superioridade em nenhuma delas nos padrões de infiltração. Os resultados de FERREIRA (2006), também não revelam superioridade em nenhuma

técnica de aplicação do corante. STARKEY *et al.* (1993) estudaram possíveis influências que mudanças de pH na solução traçadora teriam sobre os padrões de infiltração e não encontraram diferenças entre grupos. Frente a estes resultados, encontrados na literatura, observa-se que apesar dos inúmeros esforços para o aprimoramento e padronização de metodologias de infiltrar agentes traçadores nenhuma técnica proposta para impregnação da dentina mostra-se superior á outra.

Técnicas diversas levam a resultados semelhantes com relação à impregnação da dentina. Passa, portanto, a ser ponto fundamental nos estudos envolvendo infiltração de corantes a metodologia empregada na mensuração das áreas atingidas. A maioria dos trabalhos encontrados na literatura emprega medidas lineares obtidas através de avaliação direta da área corada no espécime seccionado, diafanizado, fotografia ou imagem digital, sob magnificação (MARSHALL *et al.*, 1960; GOING *et al.*, 1960; ANTONIAZZI *et al.*, 1968; ROBAZZA & ANTONIAZZI, 1976; ROBAZZA *et al.*, 1981; MATLOFF *et al.*, 1982; DELIVANIS & CHAPMAN, 1982; MOURA & PAIVA, 1989; GOLDMAN *et al.*, 1989; OLIVER & ABBOT, 1991; PASHLEY *et al.*, 1992; STARKEY *et al.*, 1993; CAMPS & PASHLEY, 1993; PATHOMVANICH & EDMUNDS, 1996; DÉJOU *et al.*, 1996; WIMONCHIT *et al.*, 2002; KARAGENÇ *et al.*, 2006).

O uso de imagens digitalizadas sustenta-se na facilidade de obtenção da imagem final e na padronização da imagem a ser analisada (LEMOS *et al.*, 2002). Estas metodologias apesar de amplamente utilizadas, principalmente pela facilidade na aplicação, sofrem críticas pela subjetividade: a leitura, delimitação e interpretação da área corada dependem de um avaliador. Os limites da coloração não são precisos a olho nu e pode gerar dúvidas, fato observado na metodologia aplicada neste trabalho especialmente com as imagens do grupo FC3 no formato JPEG.

Avanços tecnológicos na área da informática proporcionaram o desenvolvimento de *softwares*, constantemente aperfeiçoados e atualizados, que auxiliam e facilitam a leitura de imagens digitalizadas (GLYN JONES & YOUNGSON, 1988; YOUNGSON *et al.*, 1990; GALE *et al.*, 1994; HAMAOKA, 1996; YOUNGSON *et al.*, 1998; FRÓIS, 1999; PALAMARA, 2000; LEMOS *et al.*, 2002). Estes programas podem processar e calcular parâmetros como área e perímetro de áreas digitalizadas, mas, na maioria das vezes, não eliminam a necessidade de um operador que delimite a área corada, sofrendo, portanto interferência dos critérios de percepção visual da infiltração pelo olhar humano.

A utilização de *softwares* minimiza a subjetividade na avaliação. Pensando em diminuir as variáveis durante a leitura dos dados este trabalho preocupou-se em determinar se o formato da imagem, com maior resolução e melhor qualidade, poderia exercer influência positiva, facilitando a interpretação dos dados pelo computador.

O *software* Leica Qwin fornece cálculo de áreas e perímetros e possui ferramentas que permitem calcular a área alcançada pelo corante a partir da determinação digital das nuances da cor do agente traçador. O intervalo de tonalidades diferentes, a ser incluído na análise, deve ser informado ao *software* pelo avaliador durante estabelecimento de rotina de trabalho do programa. Apesar de não depender de um operador para delimitação da área corada a subjetividade neste programa fica por conta da determinação de quais tonalidades indicam a infiltração do corante. Parâmetro este dificultado pela grande diferença entre acuidade visual do olho humano, capaz de reconhecer aproximadamente sete milhões de cores, contra a capacidade digital que exhibe em torno de 16 milhões de cores. Isto explica a limitação do o olho humano em reconhecer tons próximos. O

sistema visual humano diferencia com mais facilidade cores de tonalidades distintas. Isto pode justificar porque SKELTON MACEDO (2003), não observou diferença neste método comparado com os outros, corroborado por este trabalho.

O *software* ImageLab, também fornece cálculo de áreas e perímetros, através de uma ferramenta que permite a delimitação manual de nuances de azul visíveis no monitor. Neste caso a acuidade visual também pode ser um obstáculo, pois quanto mais distante do canal mais tênue torna-se a impregnação da dentina, e mais difícil delimitar bordas. Quanto menor a diferença de cor, mais imperceptível torna-se o contorno.

A utilização de *softwares* para delimitação e cálculo de áreas coradas requer imagens digitais de qualidade, com a melhor resolução e tonalidades tão próximas do real quanto possível. Esta exigência gera arquivos muito grandes. Uma possível solução para este problema seria a compressão de imagens que se baseia em desprezar informações redundantes ou desnecessárias, aproveitando-se das limitações da acuidade visual humana, diminuindo o espaço ocupado pela imagem. Os arquivos mais comuns atualmente, disponíveis na grande maioria dos equipamentos fotográficos, são TIFF e JPEG.

Arquivos em TIFF sofrem compressão sem perdas, ou seja, a imagem resultante possui qualidade e fidelidade de cores, maior definição, mas ainda assim é um arquivo pesado.

Os arquivos em JPEG são menores comparativamente a arquivos em TIFF, porém a perda de informações é sensivelmente maior e traduzida pela degradação de cor, perda de nitidez e contornos. Estes arquivos podem apresentar diferentes níveis de compressão, quanto mais informação for retirada, maior a compressão e pior a qualidade final.

A principal diferença entre os formatos TIFF e JPEG, além do tamanho do arquivo gerado, é a profundidade de cores. Arquivos em TIFF possuem 32 bits e em JPEG 24 bits. Na prática o que se pode ver é maior quantidade de tonalidades e imagens mais nítidas proporcionalmente à profundidade de cores, pois a transição entre um pixel e outro é mais sutil.

A quase totalidade dos trabalhos de infiltração de corantes que utilizaram arquivos digitais avaliou imagens no formato TIFF (GALE *et al.*, 1994; HAMAOKA, 1996; YOUNGSON *et al.*, 1998; FRÓIS, 1999; PALAMARA, 2000; LEMOS *et al.*, 2002; SKELTON MACEDO, 2003; FERREIRA, 2006). Tentando esclarecer se a compressão do arquivo, com conseqüente redução no tamanho pela exclusão de informações redundantes, poderia alterar o resultado da aferição da infiltração este trabalho prestou-se a comparar possíveis diferenças na leitura, com auxílio do software ImageLab 2.3, a partir de imagens digitais obtidas identicamente nos dois formatos distintos, TIFF e JPEG. As imagens foram capturadas e salvas em duas versões JPEG e RAW, e posteriormente com auxílio do *software Adobe Photoshop CS2*, as imagens RAW foram convertidas em arquivo TIFF. Apesar do formato RAW ser o arquivo mais próximo da imagem real e indicada em trabalhos que exijam resolução máxima não foi utilizada nesta comparação porque a versão do *software ImageLab* utilizada não reconhece este formato.

Analisando os resultados, o tratamento empregado, infiltração passiva e fluxo contínuo por 3 ou 24 horas a diferença significativa detectada foi observada entre os grupos IP (infiltração passiva) e FC3 (fluxo contínuo três horas). O tratamento IP produziu resultados mais homogêneos de áreas coradas e o grupo FC3 foi o grupo com os resultados mais dispersos.

O fator formato de arquivo não mostrou diferença estatisticamente

significante em nenhuma das interações, porém cabe salientar que o formato JPEG apresentou maior variabilidade na observação da área corada, fato possivelmente explicado pela menor profundidade de cores, apenas 24 bits, deste arquivo. Neste formato a perda de informações, como nitidez e contornos, produzida pela compactação é maior. Além disso, a tendência deste arquivo é suavizar variações de cores dificultando a definição precisa dos contornos. Isto explica a paridade nos valores do grupo IP, para ambos os formatos, TIFF e JPEG, como os contornos são mais nítidos e precisos, fica mais fácil delimitar a área corada, tanto para o *software*, quanto pela delimitação realizada pelo operador.

Outro aspecto que deve ser considerado, é que o formato de arquivo pode apresentar diferenças na qualidade da imagem de acordo com o destino que se vai dar a ela, ou seja, a exigência de maior ou menor resolução varia de acordo com a aplicação. Usos em monitores exigem menor definição que imagens impressas.

Das observações realizadas pode-se notar que apesar das inúmeras tentativas na obtenção de resultados mais confiáveis nos métodos de infiltração, bem como nos métodos de leitura, diminuindo ou eliminando a subjetividade do operador, os resultados de infiltração obtidos através de leitura digital, com auxílio de *softwares* ou a técnica da contagem de quadrados proposta por MARSHALL *et al.* (1960), não apresentam diferenças estatisticamente significantes, conforme demonstrado por SKELTON MACEDO (2003). Portanto, a escolha da técnica para analisar áreas de infiltração de corante pode se basear na acessibilidade aos métodos digitais que além de proporcionarem resultados comparáveis e confiáveis facilitam e tornam o trabalho mais ágil.

Observando a diferença nos tamanhos de arquivos obtidos com

extensões TIFF (5,92 MB) e JPEG (1,20 MB) neste trabalho e, considerando o fato de não haver diferença estatisticamente significativa entre os tipos de arquivos sugere-se que as mensurações realizadas em fotografias digitais possam ser feitas em arquivos de extensão JPEG, por ocuparem menor espaço físico de armazenamento, já que dados científicos devem ser armazenados por pelo menos 10 anos.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e nas condições deste experimento pode-se concluir que:

- a) a Infiltração Passiva produziu resultados mais homogêneos das áreas coradas nas duas extensões de arquivos digitais propostas;
- b) o fator formato de arquivo não mostrou diferença estatisticamente significativa em nenhuma das interações tratamento/ formato, porém o arquivo em JPEG apresenta maior variabilidade na observação das áreas coradas.

ABSTRACT

Considering the necessity of standardizing methodologies of dye penetration and its respective reading for attainment of more trustworthy and comparable results in the tests of infiltration and dentyn permeability, this work evaluated comparatively the measurements of stained dentin areas by solution methylene blue under three forms of impregnation and reading in two formats of digital files, TIFF and JPEG. 30 human roots endodontically prepared had been used. The specimens had been randomly separated in three groups and infiltrated by methylene blue 0.5% under three conditions: passive infiltration for 24 hours and continuous flow for 3 and 24 hours. The temperature was kept 37°C constantly. After the experimental time the specimens had been longitudinally cut in the apical cervical direction getting two sides and the corresponding portion to the canal was filled with pink Cimpat. Both sides of each specimen had been photographed in the ratio of 1:1 and safe in two formats: Joint Photographers Experts Group (JPEG) and RAW. Later archives RAW had been converted into files Tagged Image File Format (TIFF). Measurements of stained dentin was done in both recorded files TIFF and JPEG, assisted by the software of images analyses ImageLab2.3. The values had been tabulated. In the conditions of this experiment concluded that passive infiltration resulted in more homogeneous of the stained areas than continuous flow and archive format didn't show significant statistically difference in none of the interactions format/treatment.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

1. Abinader CD, Freitas LF, Chevitaese O. Infiltração apical em dentes obturados pela técnica da condensação lateral na presença e ausência de smear layer. **Rev CRO** 2000; 2: 15-20.
2. Ahlberg KMF, Assavanop P, Tay WM. A comparison of the apical dye penetration patterns shown by methylene blue and India ink in root filled teeth. **Int Endod J** 1995; 28(1): 30-34.
3. Alecrim E. **Hardware:** scanners. 2007. Disponível em: www.infowester.com/scanners. Acesso em [2007 Fev 4].
4. Almeida YMEM. **Estudo "in vitro" da infiltração marginal coronária em canais radiculares obturados** [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2001.
5. Antoniazzi JH, Mjör IA, Nygaard-Ostby B. Assessment of the sealing properties of root filling materials. **Odontol Tidskr** 1968 Jun; 76(3): 261-71.
6. Barthel CR, Moshonov J, Shuping G et al. Bacterial leakage versus dye penetration in obturated root canals. **Int Endod J** 1999; 32(5): 370-375.
7. Barroso LS, Habitante SM, Silva FSP. Estudo comparativo do aumento da permeabilidade dentinária radicular quando da utilização do hipoclorito de sódio, EDTA e ácido cítrico após o preparo químico cirúrgico. **J Bras Endod** 2002; 3(11): 324-330.
8. Braguetto AC, Souza Neto MD, Cruz Filho AM et al. Ação da solução de EDTA e da solução de Dakin utilizadas isoladamente, misturadas ou alternadas na limpeza do canal radicular. **Rev Odontol Univ São Paulo** 1997; 11(1): 67-70.
9. Brännström M, Lindén LA, Aström A. The hydrodynamics of the dental tubule and of pulp fluid. A discussion of its significance in relation to dentinal sensitivity. **Caries Res** 1967; 1(4): 310-7 apud Sena FJ. Dentinal permeability in assessing therapeutic agents. **Dent Clin North Am** 1990; 34(3): 475-90.

¹De acordo com o Manual de Normatização para Dissertações e Teses da Faculdade de Odontologia e Centro de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic baseado no modelo Vancouver de 1997, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

10. Camps J, Pashley D. Reliability of the dye penetration studies. **J Endod** 2003; 29(9): 592-94.
11. Cardoso RJA, Skelton Macedo MC. Proteção pulpar - uma visão para a clínica. In: Feller C, Gorab R. **Atualização na Clínica Odontológica**. 2000 jan; 2(2): 55-78.
12. Cohen S, Burns RC. **Caminhos da Polpa**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.
13. Chailertvanitkul P, Saunders WP, Mackenzie D. Coronal leakage of obturated root canals after long term storage using a polymicrobial marker. **J Endod** 1997; 23(10): 610-13.
14. Déjou J, Sindres V, Camps J. Influence of criteria on the results of in vitro evaluation of microleakage. **Dent Mater** 1996 Nov; 12(6): 342-9.
15. Delivanis PD, Chapman KA. Comparison and reliability of techniques for measuring leakage and marginal penetration. **Oral Surg** 1982; 53(4): 410-416.
16. Dickson SS, Peters DD. Leakage evaluation with and without vacuum of two gutta-percha fill techniques. **J Endod** 1993; 19(8): 398-403.
17. Dippel H, Hoppenbrouwers P, Borggreven J. Influence of the smear layer and intermediary base materials on the permeability of dentin. **J Dent Res** 1981; 60: 1211.
18. Douglas WH, Zakariasen KI. Volumetric assessment of apical leakage utilizing a spectrophotometric, dye recovery method. **J Dent Res** 1981; 60: 438.
19. Dow PR, Ingle JI. Isotope determination of root canal failure. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1955 Oct; 8(10): 1100-4.
20. Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). **Permeabilidade da Dentina**. 2007. Disponível em: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/>. Acesso [2007 fev 4].
21. Estrela C. **Ciência Endodôntica**. São Paulo: Artes Médicas; 2004.
22. Ferreira R. **Análise in vitro da penetração do corante azul de metileno na dentina radicular humana variando-se o método de impregnação** [tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

23. Fróis IM. **Influência do conteúdo do sistema endodôntico na permeabilidade da dentina radicular, pós-preparo do canal** [tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 1999.
24. Gale MS, Darvell BW, Cheung GSP. Three dimensional reconstruction of microleakage pattern using a sequential grinding technique. **J Dent** 1994; 22(6): 370-375.
25. Gale MS, Darvell BW. Dentine permeability and tracer tests. **J Dent** 1999; 27(1): 1-11.
26. Glyn Jones J, Grieve AR, Youngson CC. Marginal leakage associated with three posterior restorative materials. **J Dent** 1988; 16(3): 130-134.
27. Going RE, Massler M, Dute L. Marginal penetration of dental restorations as studied by crystal violet dye and I131. **J Am Dent Assoc** 1960; 61(3): 285-300.
28. Goldman M, Simmonds S, Rush R. The usefulness of dye-penetration studies reexamined. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1989 Mar; 67(3): 327-32.
29. Gempel M, Antoniazzi JH, Paiva JG. Determinação da permeabilidade dentinária radicular natural de dentes humanos anteriores, segundo a faixa etária e o tipo de corante utilizado. **Rev Paul Odontol** 1990 jan-fev 1990; 12(1): 14-6.
30. Gutiérrez JH, Herrera VR, Berg EH et al. The risk of intentional dissolution of the smear layer after mechanical preparation of root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1990 July; 70(1): 96-108
31. Hamaoka L. **Avaliação in vitro da permeabilidade dentinária radicular, tendo como fonte de variação três diferentes tipos de corantes** [tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1996.
32. Iglesias R. **A resolução e a fotografia digital**. 2007. Disponível em: www.iar.unicamp.br/disciplinas/fotografiadigital. Acesso em [2007 Fev 4].
33. Jacobson SM, von Fraunhofer JA. The investigation of microleakage in root canal therapy: an electrochemical technique. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1976; 42(6): 817-23.

34. Jugdar MC. **Coluna Photoshop**: definindo a resolução ideal para uma imagem no Photoshop. 2007. Disponível em: www.mxstudio.com.br. Acesso em [2007 Fev 4].
35. Karagenç B, Gençoglu N, Ersoy M et al. A comparison of four different microleakage tests for assessment of leakage of root canal fillings. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2006 July; 102(1): 110-3.
36. Kersten HW, Moorer WR. Particles and molecules in endodontic leakage. **Int Endod J** 1989; 22(3): 118-24.
37. Lemos EM, Caldeira LC, Aun CE et al. Método de captura e utilização de imagem digital direta (IDD) com finalidade didática em Odontologia. **RPG Rev Pós Grad** 2002; 9(3): 199-206.
38. Lillo L, Pierleoni F, Pagavino G. In tema di sclerosi tubulare. **Minerva Stomatol** 1992; 41(11): 491-7.
39. Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. **J Endod.** 1984 Oct; 10(10): 477-83.
40. Madison S, Zakariasen KI. Linear and volumetric analysis of apical leakage in teeth prepared for posts. **J Endod** 1984; 10(9): 422-7.
41. Magalhães CF. **Permeabilidade dentinária: o uso de substâncias químicas auxiliares** [monografia]. Campinas: Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic; 2005.
42. Marmion J. Formatos Digitais: capítulo IV. 2007. Disponível em: www.sampaonline.com.br/especiaisfotografias. Acesso em [2007 Fev 4].
43. Marshall FJ, Massler M, Dute HL. Effects of endodontic treatment on permeability of root dentine. **Oral Surg** 1960; 13(2): 208-23.
44. Marshall Junior GW. Dentin: microstructure and characterization. **Quintessence Int** 1993 Sept; 24(9): 606-17.
45. Matloff IR, Jensen JR, Singer L et al. A comparison of methods used in root canal sealability studies. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1982 Feb; 53(2): 203-8.

46. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canal after endodontic procedure. **J Endod** 1975; 1: 238-42.
47. Mjör IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. **Arch Oral Biol** 1996 May; 41(5): 401-12.
48. Mjor IA, Snith MR, Ferrari M et al. the structure of dentine in the apical region of human teeth. **Int Endod J** 2001; 34(5): 346-53.
49. Moura AAM, Robazza CRC, Paiva JG. A relação entre permeabilidade dentinária e o uso do Endo PTC no preparo do canal. Estudo “in vitro” e “in vivo”. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1978; 32(1): 37-46.
50. Moura AM, Paiva JG. Analise “in vitro” da permeabilidade dentinária radicular quando do emprego de instrumentos endodônticos, tendo como fonte de variação o instrumento e o numero de uso: contribuição para o estudo. **Rev Odontol USP** 1989; 3(1): 262-70.
51. Negraes R. **Manual de Fotografia Digital**. 2002. Disponível em <http://www.bancodaimagem.com.br/curso/index>. Acesso em [2007 Fev 4].
52. Oliver CM, Abbott PV. Entrapped air and its effects on dye penetration of voids. **Endod Dent Traumatol** 1991 June; 7(3): 135-8.
53. Oppenheimer S, Rosenberg PA. Effect of temperature change on the sealing properties of Cavit and Cavit G. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1979 Sept; 48(3): 250-3.
54. Outhwaite WC, McKenzie DM, Pashley DH. A versatile split-chamber device for studying dentin permeability. **J Dent Res** 1974 Nov-Dec; 53(6): 1503.
55. Palamara JEA, Wilson PR, Thomas CDL et al. A new imaging technique for measuring the surface strains applied to dentine. **J Dent** 2000; 28(2): 141-6.
56. Pashley DH, Thompson SM, Stewart FP. Dentin permeability: effects of temperature on hydraulic conductance. **J Dent Res** 1983 Sept; 62(9): 956-9.
57. Pashley DH, Depew DD. Effects of the smear layer, Copalite, and oxalate on microleakage. **Oper Dent** 1986 Summer; 11(3): 95-102.
58. Pashley DH. Clinical correlations of dentin structure and function. **J Prosthet**

- Dent** 1991; 66(6): 777-81.
59. Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. **Crit Rev Oral Biol Med** 1996; 7(2):104-33. Review.
 60. Pashley EL, Comer RW, Simpson MD et al. Dentin permeability: sealing the dentin in crown preparations. **Oper Dent** 1992 Jan-Feb; 17(1): 13-20.
 61. Pathomvanich S, Edmunds DH. Variation in the microleakage produced by four different techniques in root fillings in a simulated root canal model. **Int Endod J** 1996 May; 29(3): 156-62.
 62. Pitt Ford TR. Relation between seal of root fillings and tissue response. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1983 Mar; 55(3): 291-4.
 63. Prati C. What is the clinical relevance of in vitro dentin permeability tests? **J Dent** 1994; 22(2): 83-8.
 64. Robazza CRC, Antoniazzi JH. Permeabilidade da dentina radicular após o uso de substâncias de irrigação. **Rev Fac Farm Odontol Rib Preto** 1976; 13(2): 185-92.
 65. Robazza CRC, Paiva JG, Antoniazzi JH. Variações na permeabilidade da dentina radicular quando do emprego de alguns fármacos auxiliares no preparo endodôntico. Contribuição ao estudo. **Rev Assoc Paul Cir Dent** 1981; 35(6): 528-33.
 66. Sena FJ. Dentinal permeability in assessing therapeutic agents. **Dent Clin North Am** 1990; 34(3): 475-90.
 67. Siqueira EL. **Dissolução de tecido pulpar bovino por duas composições químicas utilizadas em Endodontia** [tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.
 68. Skelton Macedo MC. **Comparação de diferentes métodos de leitura aplicados à infiltração de corante em dentina humana** [tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.
 69. Starkey DL, Anderson RW, Pashley DH. An evaluation of the effect of methylene blue dye pH on apical leakage. **J Endod** 1993; 19(9): 435-9.
 70. Tagami J, Hosada H, Burrow MF et al. Effect of aging and caries on dentin

- permeability. **Proc Finn Dent Soc** 1992; 88(1): 140-54.
71. Tao L, Anderson RW, Pashley DH. Effect of endodontic procedures on root dentin permeability. **J Endod** 1991; 17(12): 583-8.
 72. Taylor MJ, Lynch E. Microleakage. **J Dent** 1992 Feb; 20(1): 3-10.
 73. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA et al. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2002 Dec; 94(6): 658-66.
 74. Trowbridge HO. Model systems for determining biologic effects of microleakage. **Oper Dent** 1987 Autumn; 12(4): 164-72.
 75. Wimonchit S, Timpawat S, Vongsavan N. A comparison of technique for assessment of coronal dye leakage. **J Endod** 2002; 28(1): 1-4.
 76. Wu MK, Wesselink PR. Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. methodology, application and relevance. **Int Endod J** 1993; 26(1): 37-43.
 77. Youngson CC, Grey NJA, Glyn Jones J. In vitro marginal microleakage: examination of measurements used in assessment. **J Dent** 1990; 18(3): 142-6.
 78. Youngson CC, Glyn Jones JC, Manogue M et al. In vitro dentinal penetration by tracers used in microleakage studies. **Int Endod J** 1998; 31(2): 90-9.
 79. Zakariasen KL, Douglas WH, Stadem P. Comparison of volumetric and linear measurements of root canal leakage. **J Dent Res** 1981 Mar; 60(sp. A): 627.

ANEXO



SÃO LEOPOLDO MANDIC
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Aprovado pelo CEP

Campinas, 29 de Agosto de 2007.

A(o)

C. D. Viviane Raizer Mendes

Curso: Mestrado em Endodontia

Prezado(a) Aluno(a):

O projeto de sua autoria "Influência do tipo de imagem digital na avaliação de infiltração de corantes".

Orientado pelo(a) Prof(a) Dr(a) Rielson José Alves Cardoso

Entregue na Secretaria de Pós-graduação do CPO - São Leopoldo Mandic, no dia 05/04/2007, com número de protocolo nº 07/0074, foi APROVADO pelo Comitê de Ética e Pesquisa instituído nesta Universidade de acordo com a resolução 196 /1.996 do CNS - Ministério da Saúde, em reunião realizada no dia 27/08/2007.

Cordialmente

Prof. Dr. Thomaz Wassall
Coordenador de Pós-Graduação