

Luigi Canullo¹
José Antonio Poli de Figueiredo²
Giampiero Rossi-Fedele³

¹ Private Practice, Rome
² UCL Eastman Dental Institute,
University College London
Unit of Endodontology
Clinical Lecturer
³ Honorary Clinical Lecturer

Correspondence:
Dott. Luigi Canullo
Via Nizza, 46
00198 Rome Italy
Tel./Fax: ++39 06 8411980
E-mail: luigicanullo@yahoo.com

White and grey MTA Angelus apical seal as root-end filling in endodontic surgery under simulated clinical conditions: an *ex-vivo* study

ABSTRACT

Background: the aim of this study was to evaluate the apical sealing of MTA Angelus cements through marginal adaptation and microleakage evaluation.

Methods: eighteen human single rooted teeth were divided into three groups, depending on the root-end filling material used: grey MTA, white MTA, (test groups) and Super-EBA (control group), and placed in a recipient containing distilled water and subjected to hydrostatic pressure throughout setting. Leakage tests with radioisotope ³²P and autoradiography were used; in addition, marginal gaps between retrofilling materials and surrounding dentin were assessed by SEM analysis.

Comparisons among groups were conducted with analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's post hoc test.

Results: SEM showed test groups with better marginal adaptation and more regular surface aspect, while radio-labeled isotope penetration showed no difference between groups. Statistical analysis confirmed significant differences in results between test groups and control regarding marginal adaptation test.

Conclusion: MTA-Angelus formulations have better marginal adaptation than Super-EBA, showing statistically significant differences. Leakage test carried out in this study showed no differ-

ence among the materials tested; correlation between the two methodologies was not observed.

Key words:

Autoradiography, MTA, super EBA, white MTA.

INTRODUCTION

The efficacy of surgical root canal treatment for management of chronic apical periodontitis is supported by current endodontic literature (1-3) although different procedures and materials have been used in these studies. Current trends in endodontic surgery advocate modifications in the management of soft and hard tissues. Examples include the application of periodontal surgery flap designs in endodontics (4), the suggestion of a shallow resection angle during root resection (5), as well as the use of ultrasonics instruments for retrograde preparation (6). However, the role of the root end filling material should not be neglected when considering the factors that might influence surgical root canal treatment outcomes; amongst the main requirements for an ideal root end filling material is that should be non-porous and impervious to all periapical tissues and fluids (5).

MTA and Super EBA appear to be particularly suitable for the purposes and have been extensively used clinically in

endodontic surgery (2, 3). Super-EBA is a zinc oxide-eugenol cement, reinforced by the addition of ethoxybenzoic acid (EBA) in the liquid component (7). MTA is commercially available as ProRoot (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Dentsply International, 5100 E. Skelly Dr, Ste 300, Tulsa, OK 74135, USA) or MTA-Angelus (Sweden & Martina, Via Veneto 10 - 35020 Due Carrare PD Italia, Padova, Italy). Pro-Root composition is: 75% Portland cement, 5% calcium, and 20% bismuth oxide, MTA-Angelus contains 80% Portland cement and 20% bismuth oxide (8).

The aim of this study was to evaluate *ex-vivo* the apical seal of MTA Angelus cements through marginal adaptation under SEM and microleakage evaluation using autoradiography.

MATERIALS AND METHODS

All specimens were collected according to the World Medical Declaration of Helsinki principles. Twenty single rooted teeth extracted due to periodontal disease were used for the study; they were stored in saline solution for a period of less than 1 month prior to the research. Teeth showing previous root filling material or complex apical anatomy at radiographic examination were discarded. All teeth were instrumented up to apical size 40

using the MTwo rotary instrumentation technique and 5% NaOCl (Nicolor 5, Ognà, Via Carlo Farini 63, 20159 Milan, Italy) and EDTA 17% (Ognà) as irrigants. Root canals were obturated with gutta-percha (Kerr, SybronEndo, 1717 W. Collins Ave., Orange, CA 92867, California, USA) and Roth® 801 Sealer (Roth International Ltd, 669 W Ohio St, Chicago, IL 60610, USA), with a cold lateral compaction technique. Thereafter all specimens were covered with two layers of nail varnish to prevent leakage. An apical resection at 90° to the long axis of the tooth was carried out at 3mm from the apex with a low speed diamond saw (KG Sorensen, Sao Paulo, Brazil), under copious water irrigation. Retrograde preparation of 3mm of depth was carried out using a piezo-ultrasonic unit (EMS, Ch de la Vuarpillière 31, 1260 Nyon, Switzerland) using a 3mm long active diamond tip (KiS 3D, Sweden & Martina). Subsequently the specimens were randomly divided into 3 groups of six, depending on the retrograde filling material used: group 1, white MTA (MTA Angelus White, Sweden & Martina), group 2, grey MTA (MTA Angelus, Sweden & Martina) (test groups); group 3 Super-EBA (Stailine Super-EBA, Staident International, Laleham, Staines, UK) (control). All materials were mixed and handled according to the manufacturer's instructions. Placement of the material was carried out using Hammer's micropluggers and micro-carver (Sweden & Martina). MTA was finally polished by wiping it with a moistened cotton pellet, while the Super EBA was finished by applying a finishing bur over condensed and set material; immediately after, all samples were placed in a distilled water container and subjected to hydrostatic pressure (816mm) for a 21 day period (Fig. 1). The samples were then immersed in a radio-labeled phosphoric solution (32-P ATP with a 0,4 Ci/ml concentration) (Amersham, 3350 N Ridge Ave, Arlington Heights 60004, IL, USA) for a 24 hour period in a Plexiglas box. In addition two teeth retrofilled with Fermit (Ivoclar-Vivadent AG, Benderstrasse 2. 9494 Schaan, Liechtenstein) were used as positive controls and two intact teeth were completely covered with



Fig. 1 - Water column used to simulate post-surgical conditions.

Colonna d'acqua usata per simulare le condizioni post chirurgiche

two layers of nail varnish, to be used as negative controls.

After removal from the radio-labeled solution, all teeth were thoroughly washed in distilled water to remove residual surface isotope.

Subsequently the specimens were attached perpendicularly to ultraspeed films (Eastman Kodak, 343 State Street, Rochester, NY 14650, USA) using sticky wax (Industria Zingardi, Via Mazzini 161, 15067 Novi Ligure, Italy), with their apical aspect in direct contact with the film, for a 12 hour period. Autoradiography was used to quantify radio-labeled solution penetration: dye penetration was recorded and scored 1, 2, 3, 4, in accordance to the diameter of fogging appeared on the film after development (Fig. 2).

Fogging was scored as follows. 1: between 0 and 5 mm of diameter; 2: 6 to 10 mm; 3: 11 to 15 mm; 4 more than 16 mm.

SEM analysis (Tescan Vega TS 5130, 508 Thompson Park Drive, Cranberry Twp, PA 16066, USA) was carried out to

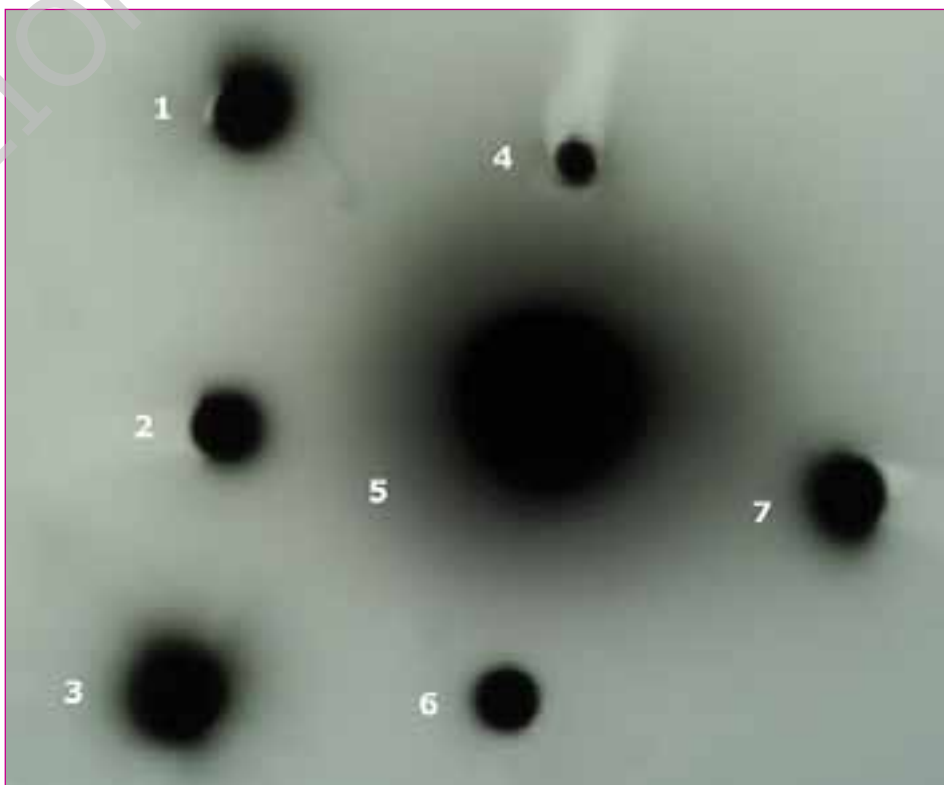


Fig. 2 - Film fogging examples.

Esempi di opacizzazione della pellicola radiografica

evaluate filling material surface conditions, as well as the distance between the filling materials and the surrounding dentin, measured at 4 points randomly selected, using high magnification (900 times).

Data were described as median, minimum and maximum. All data were log transformed prior to analysis. Comparisons among groups were conducted with analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's post hoc test. Significance level was set to $\alpha = 0,05$.

RESULTS

Values of marginal gaps between cements and surrounding dentin walls as well as fogging are summarized in Table 1. Negative control specimens showed no radio-labeled isotope penetration, whilst positive controls showed the highest scores.

Various marginal adaptation SEM image samples are illustrated in Figures 3, 4 and 5.

As can be seen in Figure 6, cements were different in respect to their gaps ($P < 0.001$). In post hoc comparisons EBA was found to have higher levels of gap when compared to Grey and White MTA. Despite the fact that White MTA

	Gap1(μm)	Gap 2 (μm)	Gap 3 (μm)	Gap 4 (μm)	Fogging
MTA White 1	2.493	0	1.37	3.085	2
MTA White 2	0	10.44	0.382	0	3
MTA White 3	2.74	2.915	0	4.03	3
MTA White 4	1.041	0	0	2.923	2
MTA White 5	0	3.837	0	0	2
MTA White 6	0	0.978	0	4.076	3
MTA Grey 1	1.13	3.145	1.815	0.553	3
MTA Grey 2	1.741	2.587	1.253	3.154	2
MTA Grey 3	0.598	0.862	0.568	5.89	2
MTA Grey 4	4.094	1.365	2.576	1.933	3
MTA Grey 5	0.782	9.319	1.986	1.383	2
MTA Grey 6	9.015	1.922	1.652	6.687	3
Super EBA 1	41.3	13.19	8.478	16.96	2
Super EBA 2	9.684	9.449	50.380	10.45	3
Super EBA 3	9.727	5.913	4.787	14.95	3
Super EBA 4	11.660	20.59	6.944	20.03	3
Super EBA 5	3.779	4.97	8.785	6.841	2
Super EBA 6	47.79	3.568	3.729	4.206	2

Table 1 - Marginal gaps between cements and surrounding dentin walls as well as fogging are summarized (μm).

Sono qui riassunti i valori di gap marginali tra il cemento e le pareti circostanti di dentina (μm) e i valori di opacizzazione.

presented lower median values when compared to Grey MTA, there was no statistically significant difference between these two compounds.

After adjusting for fogging – which was found to have no effect on gap – on a two-way ANOVA model, cements were still found to be significantly different as described above.

DISCUSSION

All specimens were allowed to set under a pressure of 816mm of distilled water (equal to 60 mm Hg), to simulate local environment caused by surgery; however the true value is unknown. Previ-

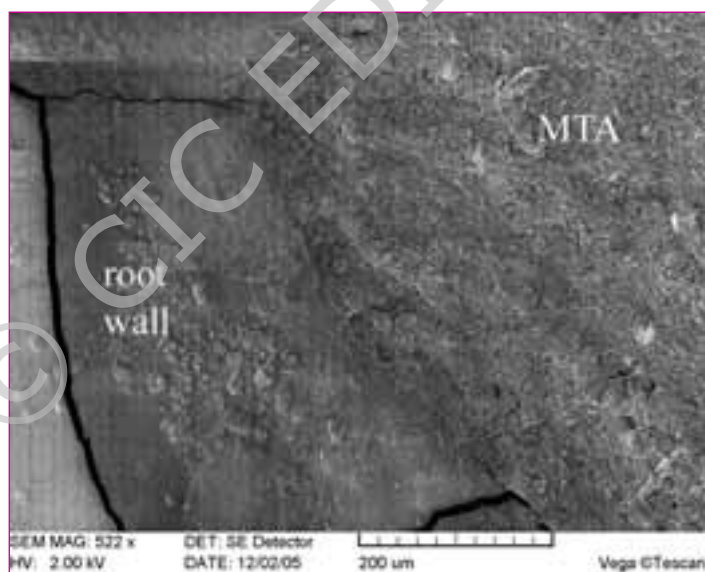


Fig. 3 - SEM image example marginal adaptation MTA white.

Immagine al SEM che esemplifica l'adattamento marginale dell'MTA bianco.

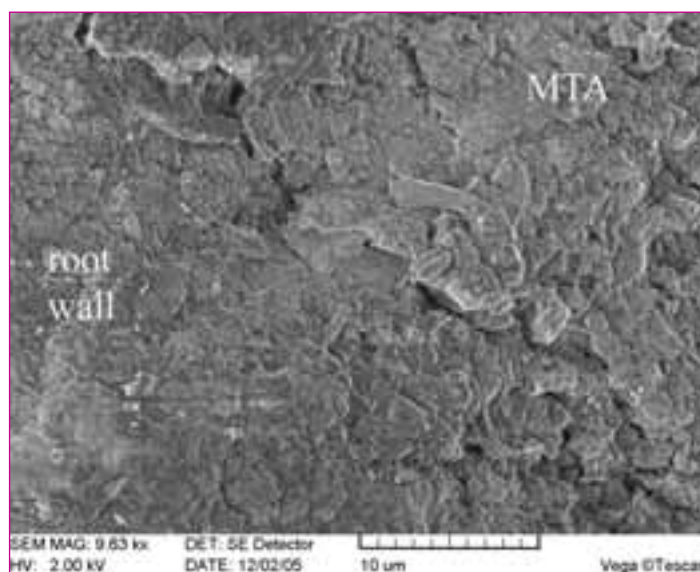


Fig. 4 - SEM image example marginal adaptation MTA grey.

Immagine al SEM che esemplifica l'adattamento marginale dell'MTA grigio.

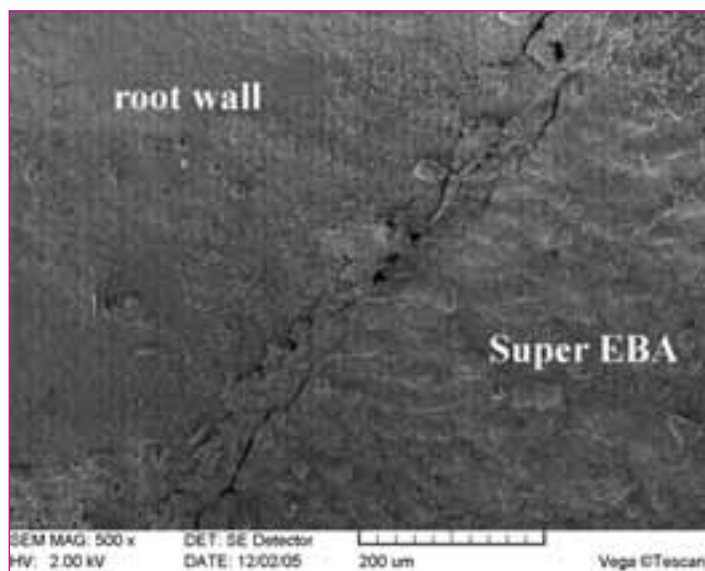


Fig. 5 - SEM image example marginal adaptation SuperEBA.

Immagine al SEM che esemplifica l'adattamento marginale del SuperEBA.

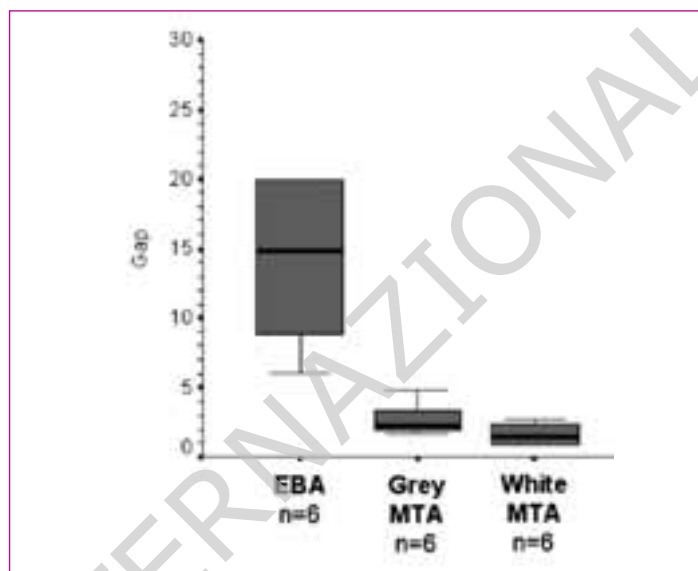


Fig. 6 - Boxplots representing marginal leakage GAP following application of three different filling cements.

Boxplots che rappresentano l'infiltrazione marginale (GAP) in seguito all'applicazione dei tre diversi cementi.

ously, in apical leakage testing, Wu *et al.* used a value of 76mm Hg for root-end filling materials (9), while Weldon *et al.* (10), to simulate furcation repair conditions, used a pressure of 20mm of water. These conditions were maintained constant for 21 days, in order to allow complete setting to the materials and avoid the possibility of chemical interaction with the leakage marker, as suggested by Xavier *et al.* (11). Phosphoric solution (32-P ATP with a 0,4 Ci ml⁻¹ concentration) was used for the leakage test; its molecular size is smaller than average sizes of exotoxins but much larger than radioisotopes commonly used for dental research (7, 12). The use of radioisotopes provides finer detail in leakage studies considering that marginal leakage involves, in both directions, percolation of fluids, invasion of different molecules, ions, enzymes and bacteria (12).

Previous publications have criticized radioisotope techniques suggesting that their results may be affected by multiple factors such as the type of isotope, the distance between radiation source and emulsion and different exposure times, therefore they might be difficult to standardize (13). However, during this research these variables were maintained constant for all samples tested. In

addition, autoradiograph with radio-labeled isotopes has been used to evaluate microleakage in restorative dentistry (12), as well as in endodontic research for leakage testing on retro-fill materials (8).

Some dyes are proven to interact with MTA components (9), while other studies indicate possible interactions between MTA and silver nitrate (11); another factor to be taken into account is that traditional microleakage evaluation might need sample sectioning, a highly demanding procedure that might involve the introduction of artifacts. This emphasizes the need for a direct analysis of the apices; for this reason, a non-invasive microleakage autoradiography detecting technique was used in the assays.

The new generation of microscopes for SEM investigation offer better resolution and magnification with easier procedures. SEM analysis without sputtering and coating of samples needs a high vacuum pressure as well as voltage; this causes sample dehydration and often the appearance of cracks on specimens, being able potentially to influence the subsequent micro-leakage testing. In order to prevent this disadvantage, it was decided to carry out leakage testing prior to the marginal adaptation analysis.

During preparation for SEM analysis, incomplete cracks originating from the root canal and spreading into the dentin, as described by De Bruyne & De Moor (14), were found evenly distributed between the groups. Cracks in the specimens can be due to traumatic extraction, root dehydration, extensive manipulation of the roots (15), root-end cavity preparation, root filling material expansion during setting and SEM examination (16).

The results of the present study showed that marginal adaptation under SEM for both MTA formulations have lower gap values compared to EBA, with white MTA presenting lower median values when compared to grey MTA; microleakage evaluation using autoradiography did not show variation between groups. It could be speculated that there might be a semi-quantitative relationship between the fogging test and gap measurements; however the fogging test seemed unable to discriminate differences amongst the specimens in our study.

Comparison with previous leakage assessments of root end filling materials is difficult as these investigations generated inconsistent results. Infact, using a bacterial leakage model, Torabinejad *et al.* (17) found that MTA leaked signifi-

cantly less than other root end filling materials, including Super-EBA; MTA was found to be the most effective root end filling material against bacterial penetration (18), while Tang et al. (19), using endotoxin as a marker, suggested that MTA, when compared to Super-EBA and other materials, provided the most effective seal. By means of a dye leakage test, Schultz et al. (20) found better resistance for MTA, when compared to Super EBA. Conversely Adamo et al. (21) found no statistically significant differences in rate of microleakage between MTA, Super-EBA and other materials; Bates et al. (22), using a fluid filtration system and dye, found comparable sealing ability between MTA and Super EBA. Recently Xavier et al. (11), using sequential sections of the apical area in their study, found statistical significance of leakage testing that depended on the section considered.

Lack of correlation between SEM analysis of marginal adaptation and the dye

penetration method for root-end filling materials has been previously shown (11-20). This may be explained by the fact that surface adaptation of materials cannot be representative of the length of the void but only of its width (14). Xavier et al. (11) analyzed sequential sections, finding an absence of correlation in their results; it was hypothesized that this could be explained either by chemical interactions between the material and the dye, or by the incomplete setting of retrofilling materials at the moment of the testing. Other explanation can be leakage through dentinal tubules opened during apicoectomy. Furthermore it has to be taken in account that the four points randomly selected to measure the marginal adaptation might not be representative of the entire interface between the retrograde filling material and the surrounding dentin, potentially leading to a lack of correlation when compared with leakage studies.

Finally, since a low number of specimens was included in this investigation, further studies with larger number of specimens are needed to understand better the quality of the apical seal of root end filling materials.

CONCLUSION

Under the conditions of this study both MTA-Angelus formulations have better marginal adaptation than Super-EBA, showing statistically significant differences, however leakage test carried out in this study showed no difference among the materials tested; lack of correlation between methodologies used was found.

Acknowledgements

We are particularly grateful to Barbara Swistak for her valuable suggestions for this manuscript.

REFERENCES

1. Chong BS, Pitt Ford TR, Hudson MB. A prospective clinical study of Mineral Trioxide Aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. *Int Endod J* 2003; 36: 520-526.
2. Rubinstein RA, Kim S. Long-term follow-up of cases considered healed one year after apical microsurgery. *J Endod* 2002; 28: 378-83.
3. Rud J, Rud V, Munksgaard EC. Long-term evaluation of retrograde root filling with dentin-bonded resin. *J Endod* 1996; 22: 90-93.
4. Velvart P. Papilla base incision: a new approach to recession-free healing of the interdental papilla after endodontic surgery. *Int Endod J* 2003; 35: 453-60.
5. Stropko JJ, Doyon GE, Guttman JL. Root-end management: resection, cavity preparation, and material placement. *Endod Topics* 2005; 11: 131-151.
6. Wuchenich G, Meadows D, Torabinejad M. A comparison between two root end preparation techniques in human cadavers. *J Endod* 1994; 20: 279-282.
7. Szeremeta-Browar TL, VanCura JE, Zaki AE. A comparison of different retrograde techniques: an autoradiographic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 59: 82-87.
8. Húngaro-Duarte MA, Cardoso de Oliveira Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC, de Campos Fraga S. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95: 345-347.
9. Wu MK, Kontakiotis EG, Wesselink PR. Long-Term seal provided by some root-end filling materials. *J Endod* 1998; 24: 557-560.
10. Weldon JK, Pashley DH, Loushine RL, Weller RN, Kimbrough WF. Sealing ability of Mineral trioxide aggregate and super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. *J Endod* 2002; 28: 467-470.
11. Xavier CB, Weismann R, de Oliveira MG, Demarco FF, Pozza DH. Root-end filling materials: apical microleakage and marginal adaptation. *J Endod* 2005; 31: 539-542.
12. Hekimoglu C, Anil N, Yalcin E. A microleakage study of ceramic laminate veneers by autoradiography: effect of incisal preparation. *J Oral Rehabil* 2004; 31: 265-70.
13. Mattison GD, von Fraunhofer A, Delivannis PD, Anderson AN. Microleakage of retrograde amalgams. *J Endod* 1985; 11: 340-345.
14. De Bruyne MAA, De Moore RJG. SEM analysis of the integrity of resected root apices of cadaver and extracted teeth after ultrasonic root-end preparation at different intensities. *Int Endod J* 2005; 38: 310-319.
15. Morgan LA, Marshall JG. The topography of root ends resected with fissure burs and refined with two types of finishing burs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 1998; 85: 585-591.
16. Gondim E Jr, Zaia AA, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Investigation of the marginal adaptation of root-end filling materials in root-end cavities prepared with ultrasonic tips. *Int Endod J* 2003; 36: 491-99.
17. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial Leakage of Mineral Trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1995; 21: 109-112.
18. Fischer EJ, Arens DE, Miller CH. Bacterial leakage of Mineral Trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, Intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. *J Endod* 1998; 24: 176-179.

19. Tang HM, Torabinejad M, Kettering J. Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin. *J Endod* 2002; 28: 5-7.
20. Schultz CB, Westhauser P, Niederöst B, Grätz KW. Obturation rétrograde par ciment MTA et Super-EBA après résection apicale. *Rev Mens Suisse Odontostomatol* 2005; 150: 550-554.
21. Adamo HL, Buruiana R, Schertzer L, Boylan RJ. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *Int Endod J* 1999; 32: 197-203.
- Bates CF, Carnes DL, Del Rio CE. Longitudinal sealing ability of Mineral Trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1996; 22: 575-578.

Il sigillo apicale dell'MTA Angelus bianco e grigio impiegato come materiale da otturazione in casi di endodonzia chirurgica in condizioni cliniche simulate: uno studio *ex-vivo*

Traduzione dell'articolo:

White and grey MTA Angelus apical seal as root-end filling in endodontic surgery under simulated clinical conditions: an *ex-vivo* study

RIASSUNTO

Background: scopo di questo lavoro è stato valutare il sigillo apicale dei cementi MTA Angelus per mezzo dell'analisi dell'adattamento marginale e della microinfiltrazione.

Metodi: diciotto elementi monoradicolari umani sono stati divisi in tre gruppi in base al materiale da otturazione apicale impiegato: MTA grigio, MTA bianco (gruppi test) e Super-EBA (gruppo controllo). Gli elementi dentari sono stati posti in un recipiente contenente acqua distillata e costantemente soggetto a pressione idrostatica fino al completo indurimento del cemento. Sono stati eseguiti test d'infiltrazione mediante il radioisotopo $\gamma^{32}\text{P}$ e autoradiografia; i gap marginali tra il materiale da otturazione retrograda e la dentina circostante sono stati analizzati al SEM.

I gruppi sono stati paragonati fra loro per mezzo dei test di analisi della varianza (ANOVA) e post hoc di Duncan. **Risultati:** il SEM ha mostrato che i gruppi test presentavano un adattamento marginale migliore e una superficie più regolare rispetto al gruppo controllo, mentre la penetrazione dell'isotopo radiomarcato non ha mostrato differenze tra i gruppi. L'analisi statistica ha confermato l'esistenza di differenze statisticamente significative

tra i gruppi test e il gruppo controllo riguardo all'adattamento marginale.

Conclusione: le formulazioni MTA-Angelus presentano un migliore adattamento marginale se paragonate al Super-EBA; la differenza tra i gruppi test e controllo è statisticamente significativa. I test di microinfiltrazione non mostrano differenze statisticamente tra i materiali testati; non sono state osservate correlazioni tra le due metodologie impiegate.

Parole chiave:

Autoradiografia, MTA, super EBA, MTA bianco.

INTRODUZIONE

L'efficacia del trattamento endodontico di tipo chirurgico per la gestione di situazioni di periodontite apicale cronica è supportata dalla contemporanea letteratura endodontica (1-3) anche se questi studi sono basati sull'impiego di differenti procedure e materiali.

Le attuali tendenze in chirurgia endodontica raccomandano cambiamenti nella gestione dei tessuti molli e duri. Alcuni esempi includono l'applicazione all'endodonzia di lembi disegnati per la chirurgia parodontale (4), il suggerimento di un angolo di resezione piano durante la resezione radicolare

(5), così come l'impiego di strumenti ultrasonici per la preparazione retrograda (6). In ogni caso, nel considerare i fattori che possono influenzare i risultati di un trattamento di endodonzia chirurgica, non va trascurato il ruolo giocato dal materiale da otturazione; un materiale da otturazione canalare ideale ha tra i requisiti principali la non porosità e l'impermeabilità a tutti i tessuti e fluidi periapicali (5).

MTA e Super EBA sono materiali che si presentano come particolarmente adatti a questo scopo e sono stati estensivamente impiegati in casi di endodonzia chirurgica (2, 3). Super-EBA è un cemento a base di ossido di zinco ed eugenolo, rinforzato dall'aggiunta di acido etossibenzoico (EBA) nella componente liquida (7). L'MTA si trova sotto il nome commerciale di ProRoot (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Dentsply International, 5100 E. Skelly Dr, Ste 300, Tulsa, OK 74135, USA) o MTA-Angelus (Sweden & Martina, Via Veneto 10 - 35020 Due Carrare PD Italia, Padova, Italy). La composizione del ProRoot è 75% cemento di Portland, 5% di calcio, e 20% di ossido di bismuto; l'MTA-Angelus contiene l'80% di cemento di Portland e il 20% di ossido di bismuto (8).

Lo scopo di questo studio è valutare, *ex vivo*, il sigillo apicale dei cementi MTA Angelus attraverso la valutazione al SEM dell'adattamento marginale e del *micro-leakage* attraverso l'autoradiografia.

MATERIALI E METODI

Tutti i campioni sono stati raccolti secondo i principi della Dichiarazione Medica Mondiale di Helsinki. In questo studio sono stati utilizzati 20 elementi dentari monoradicoli estratti per motivi parodontali; i denti sono stati conservati in soluzione fisiologica per un periodo minimo di 30 giorni prima che cominciasse la ricerca. I denti che all'esame radiografico mostravano precedenti otturazioni canalari o un'anatomia apicale complessa sono stati scartati. Tutti gli elementi dentari sono stati strumentati fino a un diametro apicale di 40 utilizzando la sistematica MTWO; l'irrigazione è stata compiuta con NaOCl al 5% (Nicolor 5, Ognà, Via Carlo Farini 63, 20159 Milan, Italy) ed EDTA al 17% (Ognà). I canali sono stati otturati con guttaperca (Kerr, SybronEndo, 1717 W. Collins Ave., Orange, CA 92867, California, USA) e cemento Roth® 801 Sealer (Roth International Ltd, 669 W Ohio St, Chicago, IL 60610, USA), secondo la tecnica di otturazione laterale a freddo.

In seguito tutti i campioni sono stati rivestiti da due strati di lacca per unghie per prevenire l'infiltrazione. La resezione apicale è stata effettuata con un angolo di 90° rispetto all'asse lungo del dente, a 3 mm dall'apice, con un disco diamantato a bassa velocità (KG Sorensen, Sao Paulo, Brazil) e sotto abbondante irrigazione. La preparazione retrograda, profonda 3 mm, è stata eseguita utilizzando un'unità piezo-ultrasonica (EMS, Ch de la Vuarpillière 31, 1260 Nyon, Switzerland) e un inserto diamantato attivo della lunghezza di 3 mm (KIS 3D, Sweden & Martina). I campioni sono poi stati suddivisi in maniera casuale in 3 gruppi di 6, dipendentemente dal materiale da otturazione retrograda testato: gruppo 1, MTA bianco (MTA Angelus White, Sweden & Martina), gruppo 2, MTA grigio (MTA Angelus, Sweden & Martina) (gruppi test); gruppo 3, Super-EBA (Stalline Super-EBA, Stident International, Laleham, Staines, UK) (controllo). Tutti i materiali

sono stati miscelati e manipolati secondo le indicazioni della casa produttrice. Il posizionamento del materiale è stato effettuato mediante *micropluggers* e *microcarver* di Hammacher (Sweden & Martina). L'MTA è stato rifinito strofinandolo con un pellet di cotone umido, mentre il Super EBA è stato rifinito passando una fresa da finitura sul materiale condensato e indurito; immediatamente dopo, tutti i campioni sono stati immersi in acqua distillata e sottoposti a pressione idrostatica (816 mm) per 21 giorni (Fig. 1).

I campioni sono stati poi immersi in una soluzione fosforica radiomarcata (γ 32-P ATP con una concentrazione di 0,4 μ Ci/ml) (Amersham, 3350 N Ridge Ave, Arlington Heights 60004, IL, USA) per 24 ore all'interno di un contenitore di Plexiglas. Due elementi dentari recanti un'otturazione retrograda in Fermit (Ivoclar-Vivadent AG, Benderstrasse 2, 9494 Schaan, Liechtenstein) sono stati utilizzati come controlli positivi e due denti intatti sono stati completamente ricoperti da due strati di lacca per unghie per essere adottati come controlli negativi.

Dopo essere stati rimossi dalla soluzione radiomarcata, tutti i denti sono stati risciacquati in acqua distillata per rimuovere gli isotopi superficiali residui. I campioni sono poi stati attaccati perpendicolarmente a pellicole radiografiche ultra-rapide (Eastman Kodak, 343 State Street, Rochester, NY 14650, USA) utilizzando una cera collosa (Industria Zingardi, Via Mazzini 161, 15067 Novi Ligure, Italy), in modo che il loro aspetto apicale fosse in diretto contatto con la pellicola per 12 ore. L'autoradiografia è stata impiegata per quantificare la soluzione radiomarcata: è stato possibile quindi registrare l'infiltrazione, che è stata classificata secondo i punteggi 1, 2, 3 e 4 in relazione al diametro dell'opacità apparsa sulla radiografia sviluppata (Fig 2).

L'opacizzazione è stata classificata come segue. 1: diametro compreso tra 0 e 5 mm; 2: diametro compreso tra 6 e 10 mm; 3: diametro compreso tra 11 e 15 mm; 4 diametro maggiore di 16 mm. L'analisi al SEM (Tescan Vega TS 5130, 508 Thompson Park Drive, Cranberry

Twp, PA 16066, USA) è stata condotta con lo scopo di valutare le condizioni superficiali del materiale da otturazione, così come la distanza tra il materiale da otturazione e la dentina circostante, misurata in 4 punti scelti casualmente, utilizzando un forte ingrandimento (900 X).

I dati sono stati descritti in termini di mediana, minimo e massimo. Tutti i dati sono stati trasformati in logaritmo prima dell'analisi. I test ANOVA e post hoc di Duncan sono stati impiegati per paragonare fra loro i gruppi. Il livello di significatività è stato fissato a $\alpha=0,05$.

RISULTATI

I valori di gap marginale fra i cementi e la dentina circostante, così come l'opacità radiografica, sono riassunti nella Tabella 1. I campioni assunti come controllo negativo non hanno mostrato penetrazione d'isotopi radiomarcati, mentre i controlli positivi hanno riportato i punteggi più elevati.

Varie immagini concernenti l'adattamento marginale dei campioni sono illustrate nelle Figure 3, 4 e 5.

Come mostrato nella Figura 6, i cementi differiscono fra loro se si considerano i gap ($P<0.001$). Nella comparazione post hoc l'EBA ha mostrato i più alti livelli di gap, se paragonato all'MTA grigio e bianco. Nonostante l'MTA bianco presenti valori di mediana inferiori rispetto all'MTA grigio, non c'è differenza statisticamente significativa tra questi due gruppi.

Dopo essere stati trattati per opacizzazione – che non ha effetti sul gap – su un modello ANOVA two-ways i cementi hanno mostrato differenze statisticamente significative come precedentemente descritto.

DISCUSSIONE

Tutti i campioni sono stati valutati dopo indurimento sotto una pres-

sione di 916 mm di acqua distillata (pari a 60 mmHg), per simulare l'ambiente conseguente a un intervento di chirurgia endodontica; in ogni caso l'esatto valore di pressione non è conosciuto. In precedenza, in un test riguardante l'infiltrazione apicale, Wu et al. avevano usato un valore di 76 mmHg per materiali da otturazione canalare (9), mentre Weldon et al. (10), per simulare le condizioni di riparazione di una forcazione, avevano usato una pressione di 20 mm d'acqua. Queste condizioni sono state mantenute costanti per 21 giorni, al fine di permettere il completo indurimento dei materiali ed evitare la possibilità d'interazione chimica con il marker per l'infiltrazione, come suggerito da Xavier et al. (11).

Per il test d'infiltrazione è stata usata una soluzione fosforica (γ 32-P ATP, concentrazione di 0,4 μ Ci ml⁻¹); la dimensione molecolare è inferiore alla dimensione media delle esotossine, ma molto maggiore di quella dei radioisotopi comunemente impiegati nella ricerca in campo odontoiatrico (7,12). L'impiego di radioisotopi fornisce dettagli più precisi negli studi sul *leakage*, considerando che l'infiltrazione marginale coinvolge, in entrambe le direzioni, il passaggio di liquido e l'invasione di diverse molecole, ioni, enzimi e batteri (12).

Precedenti pubblicazioni hanno criticato le tecniche con radioisotopi suggerendo che i loro risultati possano essere influenzati da molteplici fattori quali il tipo d'isotopo, la distanza fra la sorgente di radiazioni e l'emulsione e diversi tempi d'esposizione, e che possano essere difficili da standardizzare (13). Durante questo studio queste variabili sono state mantenute costanti per tutti i campioni analizzati. Le autoradiografie con isotopi radiomarcanti sono state impiegate per valutare la microinfiltrazione in odontoiatria restaurativa (12), così come nella ricerca endodontica sull'infiltrazione a carico dei materiali da otturazione retrograda (8).

Alcuni coloranti hanno comprovato interazione con i componenti dell'MTA (9), mentre altri studi indicano la possibilità d'interazioni tra MTA e nitrato

d'argento (11); un altro fattore da considerare è che la valutazione tradizionale del *microleakage* può richiedere il sezionamento dei campioni, una procedura complessa che può provocare l'introduzione di artefatti. Questo enfatizza la necessità di un'analisi diretta a livello apicale. Per questo è stata usata un'autoradiografia non invasiva per la misurazione del *microleakage*.

La nuova generazione di microscopi per la valutazione SEM offre risoluzione e ingrandimenti migliori con procedure più semplici. L'analisi al SEM senza ricoprimento dei campioni richiede alta pressione sotto vuoto e alto voltaggio; questo causa la deidratazione dei campioni e spesso su di essi possono comparire delle fratture, che possono potenzialmente influenzare il test di microinfiltrazione. Per prevenire questo svantaggio, è stato deciso di eseguire il test di microinfiltrazione prima di quello di adattamento marginale.

Nella preparazione per l'analisi al SEM, sono state trovate in tutti i gruppi delle fratture incomplete che originavano dal canale radicolare e si diffondevano nella dentina, come descritto da De Bruyne & De Moor (14). Le fratture nei campioni possono essere originate da estrazione traumatica, disidratazione della radice, manipolazione eccessiva delle radici (15), preparazione della cavità retrograda, espansione del materiale da otturazione endodontica durante l'indurimento ed esame al SEM (16).

I risultati di questo studio hanno mostrato che l'adattamento marginale al SEM di entrambe le formulazioni dell'MTA ha valori di gap inferiori a quelli dell'EBA, e che l'MTA bianco ha valori di mediana inferiori a quelli dell'MTA grigio; la valutazione della microinfiltrazione per mezzo dell'autoradiografia non ha mostrato variazioni fra i gruppi. Si potrebbe affermare la probabilità che esista una relazione semi - quantitativa tra il test di opacizzazione e la misura del gap; in ogni caso, il test di opacizzazione non è sembrato in grado di discriminare le differenze fra i campioni esaminati.

E' difficile paragonare i risultati di *leakage* ottenuti in questo studio con

studi precedenti sui materiali da otturazione canalare, poiché questo tipo d'investigazioni ha generato risultati inconsistenti. Infatti, usando un modello di *leakage* batterico, Torabinejad et al. (17) hanno riscontrato che l'MTA presentava valori d'infiltrazione significativamente inferiori rispetto ad altri materiali da otturazione apicale, tra i quali vi era il Super-EBA; l'MTA è stato riconosciuto come materiale da otturazione retrograda più efficace contro la penetrazione batterica (18), mentre Tang et al. (19), impiegando un'endotossina come marker, hanno suggerito che l'MTA, comparato con Super-EBA e altri materiali, fornisse il sigillo più efficace. Per mezzo di un test di penetrazione di colorante, Schultz et al. (20) hanno confermato che l'MTA fosse più resistente del Super EBA. Al contrario, Adamo et al. (21) non hanno trovato differenze statisticamente significative per quanto riguarda la microinfiltrazione concernente MTA, Super-EBA e altri materiali; Bates et al. (22), utilizzando un sistema di filtrazione di fluidi e colorante, hanno concluso che MTA e Super EBA avessero capacità di sigillo analoghe. Recentemente Xavier et al. (11), usando sezioni sequenziali dell'area apicale, hanno trovato differenze statisticamente significative nel test d'infiltrazione che dipendevano dalla sezione considerata.

Precedentemente è stata mostrata la mancanza di correlazione tra l'analisi al SEM dell'adattamento marginale e il metodo di penetrazione del colorante per i materiali da otturazione apicale (11-20). Questo può essere spiegato dal fatto che l'adattamento superficiale dei materiali non può essere rappresentativo della lunghezza del vuoto, ma solamente della sua ampiezza (14). Xavier et al. (11) hanno analizzato sezioni sequenziali, trovando un'assenza di correlazione tra i risultati; è stato ipotizzato che questo potesse essere spiegato da interazioni tra il materiale ed il colorante, oppure da un incompleto indurimento del materiale da otturazione retrograda al momento dell'analisi. Un'altra spiegazione può essere l'infiltrazione attraverso i tubuli dentinali aperti durante l'apicectomia. Inoltre deve essere con-

siderato che i quattro punti selezionati casualmente per misurare l'adattamento marginale possono non essere rappresentativi dell'intera interfaccia tra il materiale da otturazione retrograda e la dentina circostante, portando potenzialmente a una mancanza di correlazione quando paragonati ad altri studi d'infiltrazione.

Infine, dal momento che lo studio comprende un basso numero di campioni, studi successivi su un numero di campioni più ampio sono necessari per comprendere meglio la qualità del si-

gillo apicale dei materiali da otturazione retrograda.

CONCLUSIONI

Nelle condizioni in cui è stato condotto questo studio, entrambe le formulazioni dell'MTA-Angelus hanno mostrato un migliore adattamento marginale rispetto al Super-EBA (con differenze statisticamente significative), mentre il test d'infiltrazione effettuato in questa analisi

non ha mostrato differenze tra i materiali testati. È stata riscontrata una mancanza di correlazione tra le metodologie impiegate.

Ringraziamenti

Siamo particolarmente grati a Barbara Swistak per i suoi preziosi suggerimenti riguardo a questo articolo.

*Traduzione a cura della
Dott.ssa Francesca Cerutti*