

**Morphological analysis by
electron microscopy scanning
of the apical surface of teeth
with lesions refractory to
endodontic treatment**

**| Análise morfológica pela microscopia
eletrônica de varredura da superfície
apical de dentes portadores de lesões
persistentes ao tratamento endodôntico**

ABSTRACT | Introduction: *Microorganisms which are resistant to endodontic therapy have been found to be key players in sustaining or developing periapical injury. Objective:* This study used scanning electron microscopy (SEM) to perform morphological analysis of the apical surface of twenty root-ends obtained by endodontic surgery on teeth with periapical lesions refractory to endodontic treatment. **Methods:** Endodontic treatment of the teeth studied appeared satisfactory on radiograph, with images suggestive of periapical lesions and endodontic treatment with time periods equal to or exceeding four years, or with signs and / or clinical symptoms that would justify immediate surgical intervention. **Results:** After surgical procedures, sample processing and microscopic analysis, the results showed a high occurrence of apical resorptions, followed by the presence of dead spaces, longitudinal root fractures and endodontic overfilling, respectively. The same percentage of root apex positioned apically and para-apically regarding the long axis of the root was observed and only a quarter of the samples with the presence of apical foramina. **Conclusion:** The periapical resorption processes studied, as well as the absence or deficiency of contact between the filling material and the root canal walls near the apical foramen, were associated with almost all of the observed root apices; Moreover, local factors of anatomical, pathological or iatrogenic nature, located in the apical segment of the root, may contribute to the development of periapical alterations refractory to endodontic treatment.

Keywords | Apicoectomy, endodontics, scanning electron microscopy, root cyst, periapical diseases.

RESUMO | Introdução: Microrganismos resistentes à terapia endodôntica são considerados os principais agentes a sustentar ou desenvolver uma lesão periapical. **Objetivo:** Analisar morfológicamente a superfície apical de vinte ápices radiculares obtidos pela cirurgia pararendodôntica em dentes portadores de lesões periapicais persistentes ao tratamento endodôntico. **Métodos:** A qualidade do tratamento endodôntico dos dentes estudados apresentava-se radiograficamente satisfatória, mediante microscopia eletrônica de varredura (MEV), com imagens radiográficas sugestivas de lesões periapicais e um tempo de tratamento endodôntico igual ou superior a quatro anos, ou com sinais e/ou sintomas clínicos que justificassem a intervenção cirúrgica imediata. **Resultados:** Após os procedimentos cirúrgicos, processamento das amostras e análise microscópica, os resultados evidenciaram uma elevada ocorrência de reabsorções apicais, seguida da presença de espaços mortos, fraturas radiculares longitudinais e sobreobturações endodônticas, respectivamente. Foi observado um mesmo percentual de ápices radiculares posicionados apical e parapicalmente em relação ao longo eixo da raiz e apenas um quarto das amostras com presença de foraminas apicais. **Conclusão:** Os processos reabsortivos periapicais, assim como a ausência ou a deficiência de contato entre o material obturador e as paredes do canal radicular nas proximidades do forame apical, estavam associados à quase totalidade dos ápices radiculares observados. Além disso, fatores locais de natureza anatômica, patológica ou iatrogênica – presentes no segmento apical da raiz – podem contribuir para o desenvolvimento das alterações periapicais persistentes ao tratamento endodôntico.

Palavras-chave | Apicectomia, endodontia, microscopia eletrônica de varredura, cisto radicular, doenças periapicais.

¹Universidade Vila Velha, Vila Velha/ES, Brasil.

²Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória/ES, Brasil.

³Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba/SP, Brasil

INTRODUÇÃO |

Microorganismos resistentes à terapia endodôntica são considerados os principais agentes a sustentar ou desenvolver uma lesão periapical. Eles podem colonizar o interior do Sistema de Canais Radiculares (SCR) antes de qualquer intervenção profissional (infecção primária) ou virem a infectar o canal durante ou após o tratamento endodôntico (infecção secundária). Infecções persistentes ao tratamento endodôntico são causadas por microorganismos que foram membros de uma infecção primária ou secundária, persistiram no canal após tratamento endodôntico e conseguiram se adaptar às duras condições ecológicas impostas pelos processos de preparo e obturação do SCR¹. Microorganismos podem permanecer no SCR, em áreas intocadas pelos instrumentos ou pelas substâncias químicas empregadas, principalmente representadas por canais laterais, anfractuosidades, istmos e ramificações^{2,3,4,5,6,7}. Outros podem apresentar resistência aos medicamentos utilizados ou ainda adentrar o sistema endodôntico via microinfiltração coronária, alojando-se em espaços vazios não ocupados pelo material obturador, mantendo-se livre das defesas do hospedeiro e encontrando o substrato necessário para seu crescimento. Esses microorganismos passam então a colonizar os espaços do endodonto e podem causar doenças periapicais ou perturbar o processo de reparo⁸. Devido à dificuldade ou mesmo à impossibilidade da realização da desinfecção dos canais radiculares em níveis compatíveis com a saúde periapical, e muitas vezes se faz necessária a cirurgia parentodôntica, na tentativa de solucionar tais periapicopatias⁹.

Este trabalho teve como objetivo estudar, por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), ápices radiculares obtidos pela cirurgia parentodôntica provenientes de dentes portadores de lesões periapicais persistentes ao tratamento endodôntico, com vistas a analisar a morfologia da superfície apical externa desses ápices quanto aos aspectos anatômicos, patológicos e dos acidentes e complicações endodônticos, assim como a relação do material obturador com as paredes do canal radicular nas proximidades do forame apical.

MÉTODOS |

O material deste estudo constituiu-se de vinte ápices radiculares provenientes de pacientes de ambos os sexos, entre 25 e 50 anos de idade, que apresentavam dentes

com alterações periapicais persistentes ao tratamento endodôntico convencional, com indicação de tratamento cirúrgico complementar. Os procedimentos cirúrgicos parentodônticos foram realizados na clínica do Curso de Especialização em Endodontia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Em todos os dentes incluídos, o insucesso do tratamento endodôntico foi determinado com base em exames clínicos e radiográficos. Os ápices estudados eram provenientes de dentes que apresentavam canais radiculares com obturação prévia satisfatória e imagens radiográficas sugestivas de lesões periapicais, com um tempo de tratamento endodôntico igual ou superior a quatro anos, ou com sinais e/ou sintomas clínicos que justificavam a intervenção cirúrgica imediata.

Na análise radiográfica, a obturação endodôntica desses dentes foi classificada como satisfatória quando não se observavam áreas radiolúcidas no interior da massa obturadora ou entre o material obturador e as paredes do canal radicular, e o material obturador se encontrava a uma distância máxima de até 2mm aquém do ápice radiográfico. Se um ou mais desses critérios não fossem atingidos, a obturação era considerada como insatisfatória, e a amostra era automaticamente excluída desta pesquisa.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação Brasileira de Odontologia do Espírito Santo (ABO-ES), e os pacientes assinaram um termo de consentimento elaborado de acordo com as normas desse Comitê.

Os ápices recolhidos foram acondicionados em tubos *Eppendorff* (Eppendorfs Multi-Vials, Electron Microscopy Sciences, Washington, USA) de 1,5ml contendo glutaraldeído a 2,5%, utilizado como fixador, e armazenados até o momento da análise pela MEV. As amostras foram então submetidas ao uso do ultrassom modelo *Maxiclean* 750 (Unique-Brasil), contendo água destilada, por 30 minutos para limpeza e remoção de resíduos. Logo após, foram desidratadas em um dessecador contendo sílica gel por 12 horas, à temperatura ambiente, para posterior análise ao microscópio eletrônico de varredura.

As amostras foram fixadas em um *stub* (suporte metálico) de alumínio com o auxílio de uma fita dupla face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washington, USA).

Em seguida, todos os espécimes receberam a cobertura de uma camada de 20 nanômetros de espessura de ouro/paládio

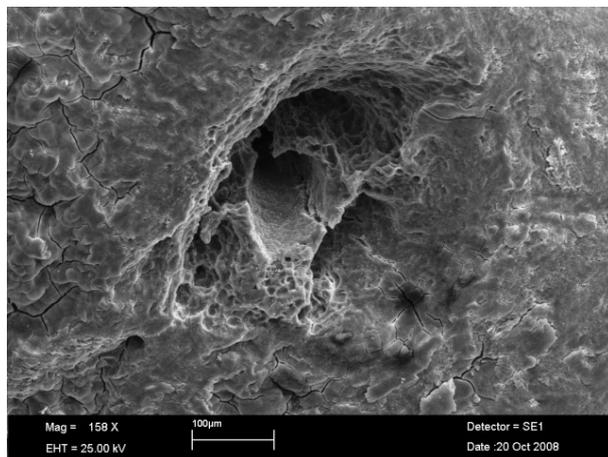
mediante o uso de um metalizador (Denton Vacuum Desk II Sputtering, Denton Vacuum, Cherry Hill, NJ). O *stub* com as amostras metalizadas foi então levado ao interior do microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 VP; LEO Electron Microscopy Ltd., Cambridge, UK) para a análise da topografia das amostras sob aceleração de voltagem de 20KV, WD=25mm e *spot size* variando de 25pA a 100pA. A análise foi realizada no laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ / USP).

Inicialmente, os ápices foram observados sob pequeno aumento para uma ampla visão morfológica. A seguir, a mesma área foi observada com aumentos maiores, de acordo com os aspectos morfológicos apicais que possibilitavam melhor observação das estruturas em questão. Não foi estabelecida a padronização para os ângulos de abordagem da peça examinada. Assim, à medida que se tornavam ilustrativas, as imagens eram capturadas.

RESULTADOS |

Na análise das amostras pela MEV, quanto aos aspectos patológicos, pôde-se verificar que dezenove (95%) apresentaram irregularidades na superfície apical com diferentes extensões e profundidades, provenientes de reabsorção inflamatória apical externa. Em oito amostras (40%), pôde ser evidenciada exposição de túbulos dentinários na área de reabsorção.

Figura 1 - Aspectos morfológicos da região apical em MEV, evidenciando áreas de reabsorção apical externa localizadas na superfície radicular e invadindo o canal radicular via forame apical



Em onze casos (55%), as reabsorções se localizavam tanto na superfície radicular quanto invadindo o forame apical e migrando em direção ao interior do canal radicular (Figura 1).

Quanto aos aspectos relacionados aos acidentes e complicações endodônticos, puderam-se evidenciar em duas amostras (10%) alterações da anatomia original do forame apical, denominada *zip* ou desvio do forame apical. Sobreobturação do cone de guta-percha através do forame apical estava presente em três (15%) dos vinte ápices analisados (figura 2). Fratura radicular longitudinal também pôde ser verificada em seis (20%) das amostras estudadas (Figura 3).

Figura 2 - Amostra observada em MEV evidenciando o *zip* ou desvio do forame apical. Observa-se também sobreobturação do cone da guta-percha (G), assim como áreas não obturadas (A) pelo cone de guta-percha e cimento endodôntico (C), assim como extensa área de reabsorção apical expondo túbulos dentinários (R)

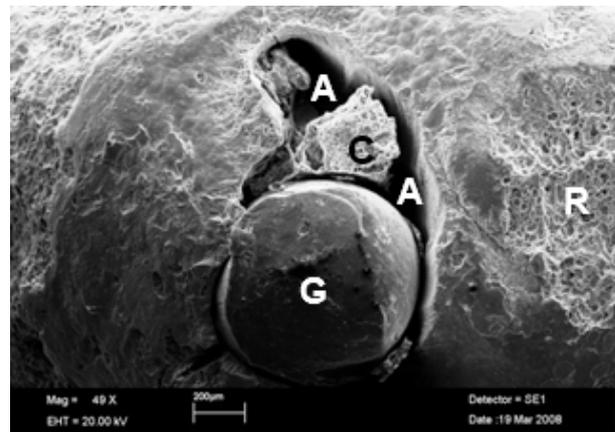
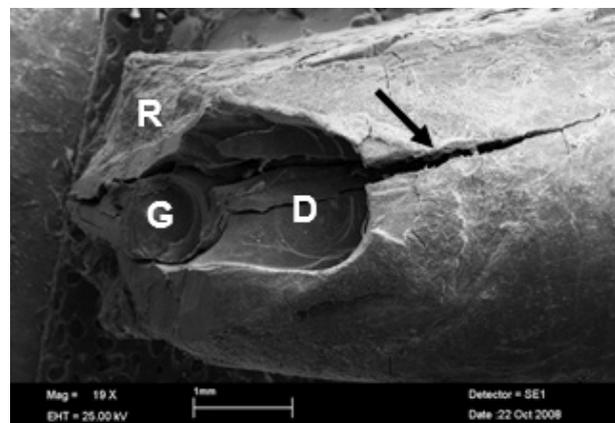


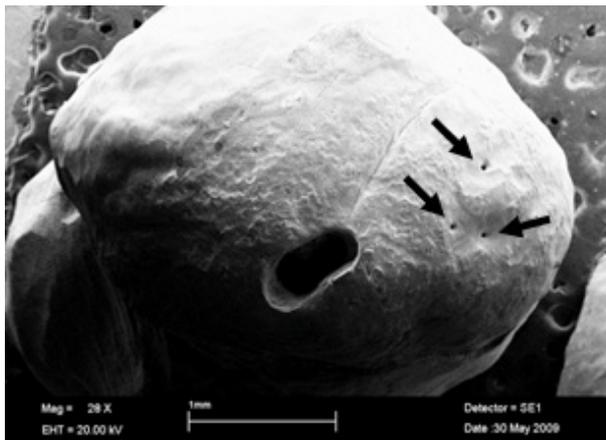
Figura 3 - Eletromicrografia evidenciando fratura radicular longitudinal. Observa-se a fratura radicular (seta), a área de reabsorção apical externa (R), o local marcado por desgaste por broca em dentina (D) e em guta-percha (G) no momento da apicectomia



No que se refere à relação do material obturador com as paredes do canal radicular, foi verificada a ausência, ou mesmo a deficiência do contato desse material com as paredes do canal nas proximidades do forame apical, formando os denominados “espaços mortos”, em dezoito (90%) das vinte amostras estudadas.

Na análise da morfologia da superfície apical, quanto aos aspectos anatômicos, mais especificamente ao número de forames e foraminas apicais, pôde-se observar a presença de dois forames apicais em sete (35%) dos ápices observados. Foraminas apicais foram notadas em cinco amostras (25%), onde quatro apresentaram duas, e uma revelou três dessas foraminas (Figura 4). Quando verificada a posição do forame apical em relação ao vértice radicular, foram observados dez forames (50%) localizados em posição coincidente com o vértice radicular (posição apical) e, conseqüentemente, dez forames localizados em posição equidistante a esse vértice (posição parapical).

Figura 4 - Ápice radicular evidenciando um forame apical e, lateralmente a este, três foraminas apicais (setas)

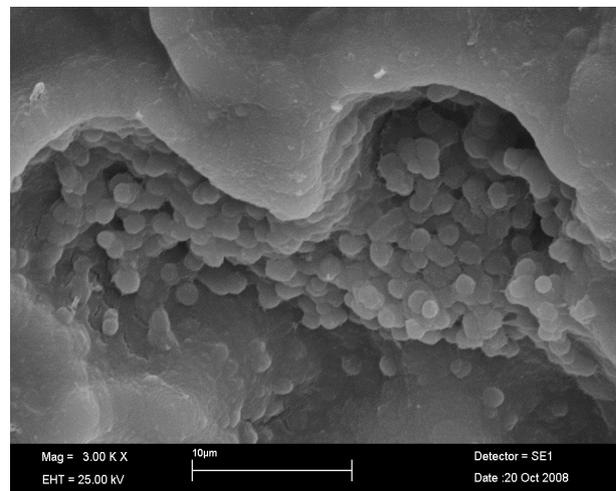


DISCUSSÃO |

Observou-se nesta pesquisa uma alta frequência de processos reabsortivos em dentes portadores de periapicopatias crônicas. A reabsorção externa de cemento e dentina devem-se à atividade clástica presente no interior do tecido granulomatoso, localizado na área da inflamação crônica periapical. Essa reabsorção pode ser mínima e não visível radiograficamente, ou tão extensa a ponto de ocorrer a perda de uma quantidade significativa da extremidade da raiz¹⁰.

As lacunas de *Howship* formadas pela reabsorção de cemento ou de cemento e dentina podem conter microrganismos (Figura 5), os quais podem estar organizados sob a forma de biofilme microbiano extrarradicular¹¹. Esse arranjo microbiano torna os procedimentos intracanaís ineficazes para eliminar os microrganismos aí alojados, por estarem fora do campo de ação dos instrumentos e soluções utilizadas no preparo químico-mecânico e das substâncias usadas como medicação intracanal^{2, 9, 12, 13, 14}.

Figura 5 - Microrganismos localizados na superfície radicular, contidos no interior de lacuna de Howship



Puderam ser verificadas áreas de reabsorção dentária inflamatória externa apical que avançaram da superfície apical para o interior do canal radicular. Essas áreas de reabsorção que invadem o canal cementário não podem ser frequentemente atingidas em toda sua extensão pelos instrumentos endodônticos, devido à anatomia divergente deste segmento em direção apical, mesmo quando é realizada a patência foraminal ou a ampliação do segmento apical, na tentativa de os instrumentos tocarem todo o perímetro do forame apical. Por isso, bactérias que porventura possam estar localizadas nessa região, dificilmente serão eliminadas mecanicamente. Deve-se levar sempre em consideração que a tentativa de ampliação do forame apical pode causar alterações excessivas em sua anatomia original, promovendo deformações as quais podem comprometer ainda mais a qualidade final do preparo químico-mecânico e da obturação do SCR^{15, 16}.

Foi observado também que, nos casos onde foi verificada a presença de reabsorção dentária externa apical com exposição dos túbulos dentinários, estavam sem exceção, incluídos entre os que haviam sido evidenciados a presença dessa reabsorção estendendo-se para o interior do canal radicular. Esse fato possibilitou observar que a reabsorção inflamatória externa apical, conforme a evolução do processo reabsortivo, invadiu o canal radicular através do forame apical. Com o aumento ainda maior da severidade desse processo, tendeu a destruir a camada de cimento na região afetada e, conseqüentemente, expor os túbulos dentinários na área reabsorvida.

Quanto aos aspectos relacionados aos acidentes e complicações endodônticas, foi possível verificar a ocorrência de *zfp* ou transporte do forame apical, que acontece notadamente em canais radiculares curvos nos quais se empregam movimentos de limagem no segmento apical da raiz, sobretudo com instrumentos endodônticos pouco flexíveis¹⁶. A forma alterada final do forame apical dificulta a seleção e o travamento do cone principal, e isso pode resultar na formação de espaços não obturados e/ou sobreobturações.

No presente estudo, nas duas amostras em que foi verificado o transporte do forame apical, houve também o transpasse do limite foraminal pelos cones de guta-percha, caracterizando assim a sobreobturação endodôntica. Em uma delas, pôde-se também observar uma ampla área não obturada entre o defeito e o material obturador, com a formação de imensas lacunas não preenchidas e propícias à percolação. Isso possibilita a suposição de que as alterações morfológicas do forame apical de causa iatrogênica, resultam num aumento da probabilidade da ocorrência das sobreobturações apicais, assim como a manutenção de espaços não preenchidos pelo material obturador no segmento apical do canal.

Também foram encontrados ápices radiculares portadores de fratura radicular longitudinal entre as possíveis causas das lesões persistentes. As fraturas radiculares longitudinais podem ser consideradas uma alteração irreversível, em que a perda do dente é dada como único prognóstico, devido principalmente à impossibilidade de uma efetiva desinfecção do segmento fraturado^{17,18}.

Na análise da relação do contato do material obturador com as paredes do canal radicular, observou-se que 90% das amostras não apresentaram vestígios de material obturador

nas proximidades do forame apical visíveis à MEV ou que, quando o material obturador estava presente, havia falhas no contato entre este e as paredes do canal, e isso sugere haver contribuição desses espaços não obturados para a persistência das lesões periapicais.

Em apenas duas amostras pôde-se verificar melhor adaptação do material obturador ao contorno do forame apical, as quais tiveram seus canais obturados com Agregado de Trióxido Mineral (MTA) e associado a elas havia ainda a presença de fratura radicular longitudinal. Isso sugere ser o MTA eficiente no que diz respeito ao selamento periférico do espaço foraminal, e se presume ser a presença da fratura radicular a causa da persistência de suas periapicopatias.

Na análise da morfologia da superfície apical externa, no que se refere aos aspectos anatômicos, foi verificado neste estudo que a metade dos ápices analisados apresentava seus forames apicais com suas posições coincidentes ou muito próximas aos respectivos ápices radiculares. Clinicamente, a posição do forame apical em relação ao ápice radicular é um fator a ser considerado na determinação do comprimento de trabalho endodôntico, pois o fato de o forame apical estar localizado parapicalmente pode colaborar para uma determinação incorreta desse comprimento, em especial quando ele é determinado apenas por métodos radiográficos. A falha na determinação do comprimento de trabalho pode causar injúrias aos tecidos periapicais, quando esse comprimento estiver determinado além ou aquém do limite ideal. Isso pode acarretar desconforto durante o tratamento, além de aumentar as possibilidades de insucesso pós-operatório¹⁹.

Com relação ao número de forames apicais, identificados como a abertura de maior diâmetro no ápice radicular²⁰, observaram-se ápices radiculares portadores de um ou dois desses forames. Dessa forma, é importante na prática clínica a verificação do número de canais radiculares e, conseqüentemente, de forames apicais que emergem em cada raiz^{21, 22}. A não localização desses canais e a ausência de sua efetiva instrumentação, desinfecção e obturação podem ser determinantes para a manutenção das alterações periapicais e o conseqüente insucesso endodôntico²³.

Autores enfatizam a importância da patência e da limpeza do forame apical no tratamento endodôntico de dentes com polpa necrosada, no intuito de a limpeza ser a mais efetiva possível, para remover mecanicamente os microrganismos

contidos no lume dos canais principais e abrir caminho para que a solução irrigadora e a medicação intracanal possam desempenhar sua função bactericida nas áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos.^{2,24, 25, 26, 27,28}

No presente estudo, foi observada a presença de cinco ápices radiculares (25%) portadores de foraminas apicais, sendo quatro com duas foraminas e um ápice com três foraminas, um baixo percentual quando comparado ao evidenciado por outros pesquisadores²⁹. Autores afirmaram que a complexa anatomia do ápice radicular pode contribuir para a persistência da lesão periapical^{15, 30}.

CONCLUSÃO |

Os processos reabsortivos apicais, assim como a ausência ou a deficiência de contato entre o material obturador e as paredes do canal radicular nas proximidades do forame apical, estavam presentes à quase totalidade dos ápices radiculares dos dentes portadores de lesões periapicais persistentes ao tratamento endodôntico analisados. Além disso, fatores locais de natureza anatômica, patológica ou iatrogênica – presentes no segmento apical da raiz, que possam dificultar ou mesmo impossibilitar os procedimentos de limpeza e preenchimento adequado do espaço endodôntico – podem contribuir para o desenvolvimento das lesões periapicais persistentes ao tratamento endodôntico.

AGRADECIMENTOS |

Os autores são gratos aos Prof. Dr. E. W. Kitajima, Prof. Dr. Francisco Tanaka e Téc. Renato Salaroli (NAP-MEPA/ESALQ-USP) pelo suporte nas análises em microscopia eletrônica de varredura.

REFERÊNCIAS |

1. Siqueira Junior JF, Rôças IN. Distinctive features of the microbiota associated with different forms of apical periodontitis. *J Oral Microbiol.* 2009;1:1-12.
2. Vieira AR, Siqueira Junior JF, Ricucci D, Lopes WSP. Dentine tubule infection as the cause of recurrent disease

and late endodontic treatment failure: a case report. *J Endod.* 2012; 38(2):250-4.

3. Vera J, Siqueira Junior JF, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod.* 2012; 38(8):1040-52.

4. Ricucci D, Loghin S, Siqueira Junior JF. Exuberant Biofilm infection in a lateral canal as the cause of short-term endodontic treatment failure: report of a case. *J Endod.* 2013; 39(5):712-8.

5. Arnold M, Ricucci D, Siqueira Junior JF. Infection in a complex network of apical ramifications as the cause of persistent apical periodontitis: A case report. *J Endod* 2013; 39(9):1179-84.

6. Ricucci D, Siqueira Junior JF. Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. *J Endod.* 2010; 36(1):1-15.

7. Chang SW, Lee JK, Lee Y, Kum KY. In-depth morphological study of mesiobuccal root canal systems in maxillary first molars: review. *Restor Dent Endod.* 2013; 38(1):2-10.

8. Ferrari PHP, Cai S, Bombana AC. Periodontite apical secundária. In: Baldacci Filho R, Macedo MCS, organizadores. *Atualização clínica em odontologia.* São Paulo: Artes Médicas; 2007. p. 343-54.

9. Pelegrine RA, Fontana CE, Pelegrine AA, Martin AS, Abe FC, Araújo RA, et al. Persistent infection in root-filled tooth: an SEM morphological analysis after apical microsurgery. *RSBO (Impr.).* 2012; 9(4):463-7.

10. Bartok RI, Văideanu T, Dimitriu B, Vârlan CM, Suciu I, Podoleanu D. External radicular resorption: Selected cases and review of the literature. *J Med Life.* 2012; 5(2):145-8.

11. Ricucci D, Siqueira Junior JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010; 36(8):1277-88.

12. Ricucci D, Siqueira Junior JF. Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. *J Endod.* 2010; 36(1):1-15.

13. Wang J, Jiang Y, Chen W, Zhu C, Liang J. Bacterial flora and extraradicular biofilm associated with the apical segment of teeth with post-treatment apical periodontitis. *J Endod.* 2012; 38(7):954-59.
14. Wang J, Chen W, Jiang Y, Liang J. Imaging of extraradicular biofilm using combined scanning electron microscopy and stereomicroscopy. *Microsc Res Tech.* 2013; 76(9):979-83.
15. Fonseca OHS, Lopes HP, Moreira EJJ, Sampaio Filho HR, Siqueira Junior JF. Adaptation of the patency instrument to the apical foramen: a scanning electron microscopic investigation. *ENDO (Lond Engl).* 2009; 3(1):61-5.
16. Souza RA, Sousa YTCS, Figueiredo JAP, Dantas JCP, Colombo S, Pécora JD. Influence of apical foramen lateral opening and file size on cemental canal instrumentation. *Braz Dent J.* 2012; 23(2):122-6.
17. Seo DG, Yi YA, Shin SJ, Park JW. Analysis of factors associated with cracked teeth. *J Endod.* 2012; 38(3):288-92.
18. Berman LH, Kuttler S. Fracture necrosis: diagnosis, prognosis assessment, and treatment recommendations. *J Endod.* 2010; 36(3):442-6.
19. Vieyra JP, Acosta J, Mondaca JM. Comparison of working length determination with radiographs and two electronic apex locators. *Int Endod J.* 2010; 43(1):16-20.
20. Spagnuolo G, Ametrano G, D'Antò V, Formisano A, Simeone M, Riccitiello F, et al. Microcomputed tomography analysis of mesiobuccal orifices and major apical foramen in first maxillary molars. *Open Dent J.* 2012; 6:118-25.
21. Toubes KMPS, Côrtes MIS, Valadares MAA, Fonseca LC, Nunes E, Silveira FF. Comparative analysis of accessory mesial canal identification in mandibular first molars by using four different diagnostic methods. *J Endod* 2012; 38(4):436-41.
22. Kim HH, Min JB, Hwang HK. Apical foramen morphology according to the length of merged canal at the apex. *Restor Dent Endod.* 2013; 38(1):26-30.
23. Soares JA, Leonardo RT. Root canal treatment of three-rooted maxillary first and second premolars: a case report. *Int Endod J.* 2003; 36(10):705-10.
24. Siqueira Junior JF, Rôças IN, Paiva SSM, Guimarães-Pinto T, Magalhães KM, Lima KC. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104(1):122-130.
25. Vera J, Siqueira Junior JF, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod.* 2012; 38(8):1040-52.
26. Vera J, Hernández EM, Romero M, Arias A, van der Sluis LW. Effect of maintaining apical patency on irrigant penetration into the apical two millimeters of large root canals: an in vivo study. *J Endod.* 2012; 38(10):1340-3.
27. Vera J, Arias A, Romero M. Dynamic movement of intracanal gas bubbles during cleaning and shaping procedures: the effect of maintaining apical patency on their presence in the middle and cervical thirds of human root canals—an in vivo study. *J Endod.* 2012; 38(2):200-3.
28. Siqueira Junior JF, Rôças IN, Lopes HP, Alves FRF, Oliveira JCM, Armada L, et al. Princípios biológicos do tratamento endodôntico de dentes com polpa necrosada e lesão perirradicular. *Rev Bras Odontol.* 2012; 69(1):8-14.
29. Verma P, Love RM. A micro CT study of the mesiobuccal root canal morphology of the maxillary first molar tooth. *Int Endod J.* 2011; 44(3):210-7.
30. Gu Y, Lu Q, Wang H, Ding Y, Wang P, Ni L. Root canal morphology of permanent three-rooted mandibular first molars—part I: pulp floor and root canal system. *J Endod.* 2010; 36(6):990-4.

Correspondência para/Reprint request to:

Francisco Carlos Ribeiro

Avenida Estudante José Júlio de Souza, 1600, apto. 1021,

Vila Velha - ES, Brasil

CEP: 29102-010

Tel: (27) 999449675

E-mail: franciscocarlosr@hotmail.com

Submetido em: 23/01/2014

Aceito em: 05/08/2014