
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cercetări privind adeziunea unor materiale de obturație radiculară pe bază de bioceramică

Doctorand **Dana Hrab**

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr.Mîndra-Eugenia Badea**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Etapele de bază ale terapiei endodontice	17
1.1. Prepararea mecanică	17
1.1.1. Crearea accesului la camera pulpară și canalele radiculare	19
1.1.2. Determinarea lungimii de lucru	20
1.1.3 Tehnici de preparare	20
1.2. Aseptizarea canalelor radiculare	23
1.2.1. Irigații canalari	23
1.2.2. Atitudinea față de smear layer	25
1.2.3. Utilizarea laser-ului în antiseptizarea canalelor radiculare	27
1.3. Obturația endodontică	29
1.3.1. Materiale de obturație endodontică	30
1.3.2. Sealerii pe bază de bioceramică	34
1.3.3. Componenta solidă a obturației radiculare	37
1.3.4. Tehnici de obturare	38
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	45
2. Metodologie generală	45
3. Studiul 1 - Studiul eficienței laserterapiei de putere redusă asupra adeziunii materialelor de sigilare endodontică cu ajutorul spectrofotometriei în infraroșu.	49
3.1. Introducere	49
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	49
3.3. Material și metodă	49
3.4. Rezultate	50
3.5. Discuții	52
3.6. Concluzii	54
4. Studiul 2 - Evaluarea radiologică comparativă a unui nou sigilant endodontic pe bază de bioceramică.	55
4.1. Introducere	55
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	56
4.3. Material și metodă	56
4.4. Rezultate	59

4.5. Discuții	59
4.6. Concluzii	61
5. Studiul 3 -Testarea activității antibacteriene a unui material de obturație endodontică experimental pe bază de bioceramică.	63
5.1. Introducere	63
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	63
5.3. Material și metodă	63
5.4. Rezultate	68
5.5. Discuții	68
5.6. Concluzii	74
6. Studiul 4 -Analiza interfeței sigilant-dentină cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj	75
6.1. Introducere	75
6.2. Ipoteza de lucru/obiective	76
6.3. Material și metodă	76
6.4. Rezultate	77
6.5. Discuții	81
6.6. Concluzii	83
7. Studiul 5 -Utilizarea microscopiei de forță atomică în evaluarea capacității de etanșizare apicală a unui material experimental de obturație endodontică pe bază de bioceramică.	85
7.1. Introducere	85
7.2. Ipoteza de lucru/obiective	86
7.3. Material și metodă	86
7.4. Rezultate	87
7.5. Discuții	90
7.6. Concluzii	91
8. Concluzii generale	93
9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	95
REFERINȚE	97

CUVINTE CHEIE: tratament mecanico-antiseptic, sigilant endodontic, obturație radiculară, laser terapie, bioceramică.

INTRODUCERE

Progresele tratamentului endodontic din ultimele decenii se referă la perfecționarea tehnică a aparaturii și instrumentarului destinate acestei specialități, și mai ales a atitudinii medicului stomatolog, în ceea ce privește diagnosticul, etapizarea intervenției, alegerea celor mai adecvate substanțe și materiale, în vederea reușitei terapeutice.

În prima parte a lucrării s-a avut în vedere complexitatea tratamentului endodontic abordând etapele cele mai importante ale acestuia, respectiv pregătirea corespunzătoare a canalului radicular atât mecanic cât și antiseptic, prezentând modalități moderne de realizare a unor condiții optime inserării materialelor de obturație radiculară. Laserterapia endodontică alături de instrumentarea riguroasă a suprafețelor endodontice poate constitui o modalitate complementară în contextul biologic al terapiei endodontice.

În partea de contribuții personale, cercetarea doctorală s-a orientat spre evaluarea comparativă a proprietăților adezive a celor două materiale de obturație endodontică pe bază de bioceramică unul consacrat, existent pe piață - Total Fill BC și unul experimental elaborat de Institutul de Cercetări în Chimie „Raluca Ripan” (ICRR) apelând la diverse metode moderne de investigare.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Ipoteza de lucru. Scopul tezei de doctorat a constat în evaluarea comparativă a caracteristicilor fizico-chimice prin diverse metode a două materiale pe bază de bioceramică destinate obturației endodontice, unul original aflat în stadiu experimental și unul consacrat, comercial. Materialul original experimental a fost elaborat de departamentul de „Compozite Polimerice” al ICRR din Cluj-Napoca, iar produsul consacrat a fost Total Fill BC (FKG Dentaire Switzerland).

Cercetarea doctorală cuprinde cinci studii:

- (1) Studiul eficienței laserterapiei de putere redusă asupra adeziunii materialelor de sigilare endodontică cu ajutorul spectrofotometriei în infraroșu.
- (2) Evaluarea radiologică comparativă a unui nou sigilant endodontic pe bază de bioceramică.
- (3) Testarea activității antibacteriene a unui material de obturație endodontică experimental pe bază de bioceramică.
- (4) Analiza interfeței sigilant-dentină cu ajutorul microscopiei electronice de

baleiaj.

- (5) Utilizarea microscopiei de forță atomică în evaluarea capacității de etanșeizare apicală a unui material experimental de obturație endodontică pe bază de bioceramică.

Metodologia generală. Au fost incluși în studiu 40 de dinți monoradiculari extrași din motive parodontale cu cel mult 4 săptămâni înainte de începerea studiului. Dinții au fost decontaminați și sterilizați în autoclav, apoi au fost secționati la nivel coronar. Lungimea de lucru a fost aceeași în tot eșantionul studiat, fiind stabilită la 16 mm. Prepararea mecanică a dinților a fost realizată utilizând sistemul rotativ ProTaper® (Dentsply Maillefer). Pentru 20 de dinți tratamentul mecanico-antiseptic a presupus folosirea unui gel chelator MM EDTA® (Micromega, France) aplicat pe fiecare dintre instrumentele de preparare canalară și irigarea continuă cu hipoclorit de sodiu de concentrație 2% (5 ml pentru fiecare eșantion). La finalul preparației, canalul a fost irigat cu 1 ml EDTA de concentrație 17%, menținut timp de 3 minute, cu scopul de a elimina smear layer-ul. În cazul celorlalți 20 de dinți tratamentul mecanico-antiseptic a presupus utilizarea laserterapiei de putere redusă cu dispozitive tip dioda HELBO TheraLite Laser (specifice terapiei fotodinamice), cu o lungime de undă de 660 nm și putere 40 mW. Iradierea s-a realizat prin tehnica modificată care nu presupune utilizarea de revelator iar irigarea canalului radicular s-a efectuat cu ser fiziologic. Pentru obturarea radiculară a dinților s-a folosit tehnica de condensare verticală la cald în treimea apicală și injectare de gutapercă în cele două treimi coronare. Câte 10 dinți din cele două loturi au fost obturați cu materialul experimental respectiv 10 cu Total Fill BC. După priza completă a materialelor, câte 5 dinți astfel pregătiți și obturați au fost apoi stocați timp de 14 zile în condiții de umiditate 100%, temperatură 4° C, în mediu cu salivă sau mediu cu sânge, rezultând 8 loturi diferite ca și metodă de preparare, irigare, mediu de stocare. Ulterior eșantioanele au fost înglobate în blocuri de rășină.

Studiul 1. Studiul eficienței laserterapiei de putere redusă asupra adeziunii materialelor de sigilare endodontică cu ajutorul spectrofotometriei în infraroșu.

Ipoteza de lucru. Obiectivul studiului actual a fost evaluarea comparativă a proprietăților fizico-chimice a două materiale de obturație endodontică pe bază de bioceramică (unul consacrat, existent pe piață- Total Fill BC și unul experimental dezvoltat în colaborare cu ICCRR Cluj-Napoca), utilizând medii de stocare diferite.

Material și metodă. Au fost incluși în studiu 40 dinți monoradiculari preparați, antiseptizați și obturați conform metodologiei generale. Dinții incluși în blocurile de rășină au fost secționati cu ajutorul microtomului (Microtom Buehler-IsoMet 1000) în felii de 1 mm, începând dinspre apical spre coronar. Feliile de dinți din treimea apicală astfel obținute, au fost pregătite pentru examinare Fourier

Transform Infrared Spectroscopy cu ajutorul spectrofotometrului FT-IR Spectrum BX și a unui dispozitiv cu reflexie atenuată.

Rezultate. Pozițiile maximelor de absorbție au fost aceleași la cele patru probe analizate în cazul obturațiilor efectuate cu sealerul Total Fill, ceea ce sugerează că nu au loc procese diferite în cazul celor două medii (sânge sau salivă), se modifică însă raportul dintre maximele de absorbție. Astfel, în cazul probelor păstrate în sânge are loc o scădere a maximului de absorbție de la 1008 cm^{-1} (corespunzător grupării carbonil C=O) în comparație cu probele imersate în salivă, ceea ce sugerează că interacțiunile dintre sânge și Total Fill au avut loc prin intermediul grupărilor carbonil. Intensitatea benzilor asociate monomerului uretanic indică o bună difuzie a sealerului endodontic la probele tratate cu laser, comparativ cu cele irigate cu EDTA în vederea îndepărtării smear layer-ului la interfața cu dentina radiculară și formarea stratului hibrid. Aceasta reprezintă un indiciu al afinității la structura dentară în aceste condiții, fapt ce îndreptățește considerarea laserterapiei de putere redusă ca potențial favorizantă a adeziunii materialului de obturație endodontică la pereții canalului radicular.

Concluzii. Interacțiunea materialului endodontic Total Fill cu saliva a fost mai slabă conducând la modificarea unui număr mai mic de legături în materialul endodontic. Sealerul bioceramic experimental a avut un comportament similar în cele două medii de păstrare, totuși interacțiunea cu saliva a fost mai puternică decât interacțiunea cu sângele în cazul sealerului experimental, rezultatele nefiind însă semnificative. Mediul de stocare poate influența adeziunea sealerului la dentina radiculară, materialul bioceramic consacrat (Total Fill BC) prezentând o adeziune superioară în mediul de stocare cu salivă. Laserterapia de putere redusă ameliorează adeziunea materialului de obturație endodontică prin îndepărtarea mai eficientă a smear layer-ului de la nivelul canalului radicular.

Studiul 2. Evaluarea radiologică comparativă a unui nou sigilant endodontic pe bază de bioceramică.

Scop. Evaluarea radioopacității a doi sigilanți endodontici cu conținut de bioceramică.

Material și metodă. Din fiecare material s-au realizat câte cinci probe sub formă de disc, cu diametrul de 10 mm și grosimea de 1 mm. Discurile de sigilant au fost poziționate împreună cu etaloanele din aluminiu pe un senzor intraoral in vitro. Rezultatele radioopacității au fost interpretate cu ajutorul unei aplicații informatice prin prelucrare digitală a radiografiei discurilor studiate.

Concluzii. Materialele studiate au prezentat radioopacități diferite, diferențele nefiind însă validate statistic. Toate valorile determinate au fost însă mai mari de 3 mm aluminiu, așadar toate au respectat standardele ISO.

Studiul 3. Testarea activității antibacteriene a unui material de obturație endodontică experimental pe bază de bioceramică.

Ipoteza de lucru. Scopul studiului actual a constat în evaluarea activității antibacteriene a materialului experimental pe bază de bioceramică utilizând metoda difuzimetrică calitativă adaptată după metoda rondelilor și a godeurilor.

Material și metodă. Microorganismele test utilizate în acest studiu au fost: *Escherichia coli* ATCC 25922 și *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 din colecția Laboratorului de Microbiologie, Facultatea de Biologie și Geologie, UBB, Cluj.

Rezultate. După 24 de ore de incubare s-au determinat zonele de inhibiție la tulpinile bacteriene testate.

Concluzii. La variantele experimentale proba 2 a prezentat inhibiție asupra creșterii bacteriene atât la probele aplicate pe mediu cât și la cele din godeuri cu diametrul zonei de inhibiție mai mare la cele inoculate cu bacteria Gram pozitivă comparativ cu cele inoculate cu bacteria Gram negativă.

Studiul 4. Analiza interfeței sigilant dentină cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj

Scop. Studiul actual are ca și scop evaluarea capacității de etanșizare apicală cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj (SEM), a două materiale de obturație endodontică pe bază de bioceramică: unul disponibil pe piață (Total Fill BC) și un material experimental dezvoltat în colaborare cu Institutul de Cercetări în Chimie "Raluca Ripan" Cluj-Napoca.

Material și metodă. Au fost incluși în studiu 40 dinți monoradiculari preparați, antiseptizați și obturați conform protocolului prezentat în capitolul de metodologie generală. Dinții incluși în blocurile de rășină au fost secționați cu ajutorul microtomului în felii de 1 mm, începând dinspre apical spre coronar, apoi feliile obținute au fost analizate cu ajutorul SEM.

Rezultate. Imaginile obținute după evaluarea probelor cu ajutorul SEM au permis identificarea și măsurarea golurilor la interfața perete dentinar/ material de obturație endodontică și implicit stabilirea gradului de etanșizare la nivelul apexului. În cazul eșantioanelor obturate cu sealer-ul experimental pe bază de bioceramică și păstrate în salivă, s-a observat o bună adaptare a acestuia la pereții dentinari.

Concluzii. Mediul de stocare poate influența adeziunea materialului de obturație endodontică la pereții dentinari. Utilizarea laserterapiei de putere redusă cu dispozitive specifice laserului fotodinamic HELBO TheraLite, tehnica modificată (fără revelator), îmbunătățește adeziunea materialului de obturație la pereții radiculari printr-o îndepărtare mai eficientă a stratului de smear layer, comparativ cu acțiunea iriganților endodontici clasici.

Studiul 5. Utilizarea microscopiei de forță atomică în evaluarea capacității de etanșizare apicală a unui material experimental de obturație endodontică pe bază de bioceramică.

Ipoteza de lucru. Scopul studiului este evaluarea capacității de etanșizare apicală cu ajutorul microscopiei de forță atomică (AFM), a unui material experimental de obturație endodontică pe bază de bioceramică dezvoltat în colaborare cu Institutul de Cercetări în Chimie "Raluca Ripan" Cluj-Napoca.

Material și metodă. Au fost incluși în studiu 40 dinți monoradiculari preparați și obturați conform protocolului prezentat în capitolul de metodologie generală. După priza completă a materialului de obturație dinții au fost uscați și incluși în blocuri de rășină.

Rezultate. Imaginile 3 D obținute de la nivelul stratului de material experimental în zona apicală arată structura de suprafață omogenă și gradul optim de penetrare la nivelul canaliculelor dentinare.

Concluzii. AFM reprezintă o modalitate promițătoare pentru evaluarea la scară nanometrică a caracteristicilor fizico-chimice a materialelor de obturație endodontică precum și a forțelor de adeziune dintre acest material și dentina radiculară.

Concluzii generale

În cadrul tezei de doctorat am urmărit evaluarea comparativă a caracteristicilor fizico-chimice, prin diverse metode a două materiale de obturație radiculară pe bază de bioceramică, unul consacrat Total Fill BC (FKG Dentaire Switzerland) și unul experimental, original, elaborat de departamentul "Compozite Polimerice" al Institutului de Cercetări în Chimie "Raluca Ripan" din Cluj-Napoca.

Rezultatele primului studiu experimental privind eficiența laser terapiei de putere redusă asupra adeziunii materialelor de sigilare endodontică cu ajutorul spectrofotometriei în infraroșu, au arătat că materialul bioceramic experimental a prezentat o adeziune satisfăcătoare, similară în cele două medii de stocare, în timp ce sealerul bioceramic consacrat, comercial a prezentat o adeziune superioară în mediu cu salivă. De asemenea am observat o adeziune superioară cu formarea unui strat hibrid mai consistent în cazul probelor tratate cu laser de putere redusă.

Din punct de vedere al evaluării radiologice, materialele studiate au prezentat radioopacități diferite, diferențele nefiind însă validate statistic. Valorile determinate au fost însă mai mari de 3 mm aluminiu, respectând astfel standardele ISO.

Cercetările efectuate în privința activității antibacteriene, au arătat că noul material de obturație endodontică experimental pe bază de bioceramică determină înhibiția creșterii bacteriene atât pentru *Escherichia Coli* cât și pentru *Staphylococcus aureus*, atât la probele aplicate pe mediu cât și la cele din godeuri. Pentru bacteria Gram pozitivă înhibiția a fost ceva mai ridicată comparativ cu bacteria Gram negativă.

Evaluarea materialului bioceramic experimental folosind imaginile SEM a permis observarea unui strat omogen în regiunea apicală, cu prezența de extensii care intersectează stratul hibrid. De asemenea am observat că utilizarea laser terapiei de putere redusă favorizează îndepărtarea stratului de smear layer, expunerea

canaliculelor dentinare și asigură o penetrare mai bună a materialului de sigilare, comparativ cu probele în cazul cărora s-au utilizat irganți clasici (EDTA/NaOCl). Prezența mediului de stocare cu sânge a determinat reducerea etanșezării în zona apicală, apariția de goluri la nivelul interfeței sealer/dentină, modificările nefiind însă semnificative comparativ cu probele imersate în salivă.

În cadrul ultimului studiu utilizarea AFM a permis analiza interfeței dentină/sealer precum și a forței de adeziune la nivel apical. Imaginile de topografie au furnizat informații cu privire la diferențele de suprafață și de structură, în timp ce imaginile de amplitudine au permis o mai bună observare a caracteristicilor de suprafață și a detaliilor. Analiza forței de adeziune a relevat o distribuție Gaussiană a valorilor pe histogramă, demonstrând omogenitatea și capacitatea de etanșezare crescută a stratului de material experimental de sigilare la nivel apical. În cazul probelor tratate cu laser imaginile AFM au permis vizualizarea unor suprafețe dentinare cu canaliculele deschise și fără smear layer, care asigură o penetrare și adeziune superioară a materialului experimental.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Complexitatea terapiei endodontice permite intervenția novatoare a cercetătorului în dorința de a oferi practicianului, materiale și tehnici noi, îmbunătățite, care să conducă la creșterea procentuală a succesului terapeutic.

Validarea unui nou produs de obturație radiculară (sealer original), presupune conceptual o îmbunătățire a compoziției în vederea îndeplinirii majorității cerințelor impuse de utilizarea unui astfel de material. Grație eforturilor personale și ale cercetătorilor de la Institutul de Cercetări în Chimie "Raluca Ripan" a fost conceput un produs experimental pe bază de bioceramică, menit să îmbunătățească calitățile celor existente în practică.

Comparativ cu materialul consacrat Total Fill BC Sealer, materialul experimental elaborat, este pe bază de rășină și are priză duală, respectiv autopolimerizare și fotopolimerizare.

Analiza calităților acestui material s-a făcut pe baza unei metodologii științifice, moderne, impusă de standardele internaționale. Astfel au fost realizate cercetări privind efectul antimicrobian, testul radioopacității, microscopia electronică de baleiaj, spectrofotometria în infraroșu. În cadrul ultimului studiu am folosit în premieră microscopia de forță atomică, metodă neutilizată până în prezent în endodonție, care s-a dovedit a fi eficientă, convingătoare și utilă.

Considerăm că utilizarea într-o coordonare armonioasă a unor metode științifice, aparent variate, poate conduce la obținerea unor rezultate cu aplicabilitate practică, convingătoare, bazate pe elemente științifice certe.

În acest context, materialul nou, experimental, pe bază de bioceramică, constituie o realizare originală, care se poate impune în cadrul gamei de produse utilizate în terapia endodontică.

PhD THESIS SUMMARY

Research on adhesion of bioceramic-based root canal sealers

Doctoral candidate **Dana Hrab**

Doctoral supervisor **Prof. univ. dr. Mîndra-Eugenia Badea**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CONTENTS

INTRODUCTION	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	
1. The basic stages of root canal treatment	17
1.1. Mechanical Preparation	17
1.1.1. Creating access to the pulp chamber and root canals	19
1.1.2. Determination of working length	20
1.1.3. Preparation Techniques	20
1.2. Root canal disinfection	23
1.2.1. Root canal irrigants	23
1.2.2. The attitude towards the smear layer	25
1.2.3. Using the laser in root canal disinfection	27
1.3. Root canal filling	29
1.3.1. Root canal filling materials	30
1.3.2. Bioceramic-based sealers	34
1.3.3. The solid component of root fillings	37
1.3.4. Filling techniques	38
PERSONAL CONTRIBUTIONS	
1. Working hypothesis / objectives	45
2. General methodology	45
3. Study 1 – Study regarding the effectiveness of low-power laser therapy on the adhesion of root canal sealers using infrared spectrophotometry.	49
3.1. Introduction	49
3.2. Working hypothesis / objectives	49
3.3. Material and method	49
3.4. Results	50
3.5. Discussions	52
3.6. Conclusions	54
4. Study 2 - comparative radiological evaluation of a new bioceramic-based root canal sealer.	55
4.1. Introduction	55
4.2. Working hypothesis / objectives	56
4.3. Material and method	56

4.4. Results	59
4.5. Discussions	59
4.6. Conclusions	61
5. Study 3 - Testing the antibacterial activity of an experimental bioceramic-based root canal sealer.	63
5.1. Introduction	63
5.2. Working hypothesis / objectives	63
5.3. Material and methods	63
5.4. Results	68
5.5. Discussions	68
5.6. Conclusions	74
6. Study 4 -Analysis of the sealer-root dentin interface using scanning electron microscopy.	75
6.1. Introduction	75
6.2. Working hypothesis / objectives	76
6.3. Material and method	76
6.4. Results	77
6.5. Discussions	81
6.6. Conclusions	83
7. Study 5 -Evaluation of the apical sealing ability of an experimental bioceramic-based root canal sealer using atomic force microscopy.	85
7.1. Introduction	85
7.2. Working hypothesis / objectives	86
7.3. Material and method	86
7.4. Results	87
7.5. Discussions	90
7.6. Conclusions	91
8. General Conclusions	93
9. The originality and innovative contributions of the thesis	95
REFERENCES	97

KEYWORDS: mechanical treatment and disinfection of the root canal, root canal sealer, root canal treatment, laser therapy, bioceramic-based sealer.

INTRODUCTION

Advances in root canal treatment in recent decades have focused on improving the technical equipment and instruments for this specialty and especially on perfecting the therapeutic attitude regarding diagnosis, staging the intervention, choosing the most appropriate substances and materials in order to achieve therapeutic success.

The first part of the thesis addressed the complexity of root canal treatment and the most important stages, such as proper mechanical preparation and disinfection of the root canal, presenting modern ways of achieving optimal conditions to place root canal filling materials. Laser therapy alongside rigorous preparation of root canal surfaces may constitute a complementary approach in the biological context of root canal therapy.

In what concerns personal contributions, the research conducted as part of this thesis has focused on a comparative evaluation of the adhesive properties of the two bioceramic-based root canal filling materials, a conventional one - Total Fill BC, and an experimental one developed by "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry using various modern methods of investigation.

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Working hypothesis. The aim of the thesis was to conduct a comparative evaluation of the physicochemical characteristics of two bioceramic-based root canal filling materials (a conventional and an experimental one) using various methods. The experimental material was developed by the department "Polymeric composites" of "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry in Cluj-Napoca, while the conventional sealer was represented by Total Fill BC (FKG Dentaire Switzerland).

This thesis consists of five studies:

- 1 - Study regarding the effectiveness of low-power laser therapy on the adhesion of root canal sealers using infrared spectrophotometry.
- 2 - Comparative radiological evaluation of a new bioceramic-based root canal sealer.
- 3 - Testing the antibacterial activity of an experimental bioceramic-based root canal sealer.
- 4 - Analysis of the sealer-root dentin interface using scanning electron microscopy.
- 5 - Evaluation of the apical sealing ability of an experimental bioceramic-based root canal sealer using atomic force microscopy.

General methodology. The study included 40 monoradicular teeth extracted due to periodontal reasons maximum 4 weeks prior to the study. Following decontamination and autoclave sterilization, the teeth were sectioned at the coronal level. Working length was the same in all the sample group, set at 16 mm. Mechanical preparation of the teeth was carried out using the ProTaper® rotary system (Dentsply Maillefer). The mechanical and antiseptic preparation of 20 teeth was performed using a MM EDTA® chelating agent (Micromega, France) placed on each instrument used for root canal preparation and continuous irrigation with 2% sodium hypochlorite (5 ml per sample). At the end of the preparation, the canal was rinsed with 1 ml of 17% EDTA for 3 minutes for smear layer removal. The mechanical and antiseptic preparation of the other 20 teeth involved the use of low-power lasertherapy with HELBO TheraLite Laser (typical for photodynamic therapy) and a wavelength of 660 nm (modified technique, without developer). The irrigation of the canal was performed using saline solution. Root canal filling was obtained by the warm vertical condensation in the apical third and injection of gutta-percha in the coronal two-thirds. Ten teeth from each of the two groups were filled with the experimental material and the other 10 with Total Fill BC. After the final adhesion of the two types of materials, five teeth prepared and treated as presented above were then stored for 14 days at 4°C and 100% humidity in storage medium containing saliva or blood, resulting in 8 different groups according to the method of preparation, irrigation, storage medium. Subsequently, the samples were embedded in resin blocks.

Study 1. Study regarding the effectiveness of low-power lasertherapy on the adhesion of root canal sealers using infrared spectrophotometry.

Working hypothesis. The objective of the current study was to conduct a comparative evaluation of the physicochemical properties of two bioceramic-based root canal sealers (a conventional one - Total Fill BC and an experimental one developed in collaboration with "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry, Cluj-Napoca) using different storage media.

Material and method. The study included 40 monoradicular teeth that underwent preparation, filling and sealing according to general methodology. The teeth embedded in resin blocks were sectioned into 1 mm slices using a microtome (Microtome Buehler-Isomet 1000), from the apical to the coronal level. Teeth slices from the apical third were prepared for Fourier Transform Infrared Spectroscopy using a Spectrum BX FT-IR spectrophotometer and an attenuated total reflection device.

Results. Absorption peaks were the same in the four samples analyzed for restorations made with Total Fill BC Sealer, which suggests that there were no different processes in the two storage media (blood or saliva), but there was a change

in peak absorption ratio. Thus, in samples stored in blood, there was a decrease in the absorption peak at 1008 cm⁻¹ (corresponding to the C = O carbonyl group) compared to samples immersed in saliva, suggesting that the interactions between blood and Total Fill were mediated by carbonyl groups. The intensity of the bands associated with urethane monomer shows good diffusion of the root canal sealer in laser treated samples compared to those irrigated with EDTA for smear layer removal from the interface with the root dentine and the formation of the hybrid layer. This is an indication of tooth structure affinity under these conditions, which justifies the potential of photodynamic laser therapy to enable the adhesion of the root canal filling material to the root canal walls.

Conclusions. The interaction between Total Fill BS Sealer and saliva was weaker, leading to a change of a smaller number of connections within the root canal material. The behaviour of the experimental bioceramic-based sealer was similar in the two storage media, yet the interaction with saliva was stronger than the interaction with blood, but the results were not significant. Storage media can influence the adhesion to dentin, the conventional bioceramic-based root canal sealer (Total Fill BC) showing a superior adhesion in storage medium consisting of saliva. Low-power laser therapy improves adhesion by ensuring a more efficient smear layer removal from the root canal.

Study 2. Comparative radiological evaluation of a new bioceramic-based root canal sealer.

Objective. Comparative evaluation of radiopacity of two bioceramic-based root canal sealers.

Material and method. Five disc-shaped samples were created from each material, with a diameter of 10 mm and a thickness of 1 mm. Sealing discs were positioned together with aluminium step wedge son an intraoral sensor in vitro. Radiopacity values were interpreted by digital processing of the radiographs using a computer application.

Conclusions. The two root canal sealers had different radiopacity, but the differences were not statistically validated. However, all values determined were larger than 3 mm aluminium, so they all complied with ISO standards.

Study 3. Testing the antibacterial activity of an experimental bioceramic-based root canal sealer.

Working hypothesis. The purpose of the current study was to assess the antibacterial activity of the bioceramic-based experimental material using the qualitative diffusion method adapted based on the washers and wells method.

Material and method. The test microorganisms used in this study were: *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 from the

collection of the Microbiology Laboratory of the Faculty of Biology and Geology of Babes-Bolyai University, Cluj-Napoca.

Results. After 24 hours of incubation, the inhibition zones to the tested bacterial strains were determined.

Conclusions. In the experimental samples, sample 2 exhibited bacterial growth inhibition in both medium and wells, with a greater diameter of the inhibition zone for Gram-positive bacteria than for Gram-negative bacteria.

Study 4. Analysis of the sealer-root dentin interface using scanning electron microscopy.

Objective. The current study aimed to evaluate the apical sealing ability of two bioceramic-based root canal filling materials (the conventional Total Fill BC sealer and an experimental material developed in collaboration with "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry, Cluj-Napoca) using scanning electron microscopy (SEM).

Material and method. The study included 40 monoradicular teeth that underwent preparation, filling and sealing according to the protocol presented in the general methodology chapter. The teeth embedded in resin blocks were sectioned into 1 mm slices using a microtome, from the apical to the coronal level. The slices obtained were further analyzed using SEM.

Results. The images obtained by SEM allowed the identification and measurement of void spaces at the dentin wall / root canal filling material interface and thus the determination of the extent of apex sealing. Samples treated with the bioceramic-based experimental sealer and stored in saliva showed a better adhesion to the dentin wall.

Conclusions. Storage media can influence the adhesion of the root canal filling material to dentin walls. Low-power laser therapy by means of HELBO TheraLite Laser (modified technique, without developer) improves adhesion of the root canal filling material to dentin walls through a more efficient smear layer removal using layer compared to the action of conventional root canal irrigants.

Study 5. Evaluation of the apical sealing ability of an experimental bioceramic-based root canal sealer using atomic force microscopy.

Working hypothesis. The purpose of the study was to evaluate the apical sealing ability of an experimental bioceramic-based root canal filling material developed in collaboration with "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry, Cluj-Napoca using atomic force microscopy (AFM).

Material and method. The study included 40 monoradicular teeth that underwent preparation, filling and sealing according to the protocol presented in the general methodology chapter. After the complete adhesion of the filling material, the teeth were embedded in dry resin blocks.

Results. The 3D images obtained by the experimental root canal material in the apical area indicate the homogenous surface structure and the optimum degree of penetration into the dental canaliculi.

Conclusions. AFM is a promising approach for the assessment of nanoscale physico-chemical characteristics of root canal filling materials as well as of the adhesion forces between this material and root canal dentin.

General conclusions

The thesis aimed to conduct a comparative evaluation of the physico-chemical characteristics of two bioceramic-based root canal filling materials (a conventional and an experimental one) using various methods. The experimental material was developed by the department "Polymeric composites" of "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry in Cluj-Napoca, while the conventional sealer was represented by Total Fill BC (FKG Dentaire Switzerland).

The results obtained in the first experimental study regarding the effectiveness of low-power laser therapy on the adhesion of root canal sealing materials using infrared spectrophotometry showed that the adhesion of the experimental bioceramic-based sealer to root dentin was satisfactory, similar in the two storage media, while the adhesion of the conventional bioceramic-based sealer to root dentin was superior in storage medium consisting of saliva. Superior adhesion with subsequent formation of a more consistent hybrid layer was also noticed in samples treated with low-power laser.

The radiological assessment of the two root canal sealers showed that they had different radiopacity, but the differences were not statistically validated. However, the determined values were greater than 3 mm aluminium and therefore they all complied with ISO standards.

Research conducted on the antibacterial activity of the two bioceramic-based root canal sealers showed that the new experimental sealer inhibited bacterial growth for both *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in both storage media and wells. Inhibition of Gram positive bacteria was slightly greater compared to that of Gram negative bacteria.

The assessment of the experimental bioceramic-based sealer using SEM images showed the presence of a homogeneous layer in the apical region, with the presence of extensions that intersect the hybrid layer. We also noticed that the use of low-power laser therapy favoured smear layer removal, exposing the dental tubules and providing better penetration of the sealer, compared to samples treated with conventional irrigants (EDTA/NaOCl). The presence of blood storage media determined a decrease in sealing tightness in the apical region, with the presence of gaps at the dentin-sealer interface. However, changes were not significant compared to samples immersed in saliva.

The last study showed that the use AFM allowed the analysis of the dentin-sealer interface and the adhesion in the apical region. Topographic images provided information on surface and structure differences, while amplitude images allowed a better observation of surface characteristics and details. The analysis of bond strength showed the histogram with the normal distribution curve, demonstrating the creation of a homogeneous layer and the increased sealing ability of the experimental sealer in the apical region. For samples treated with laser, AFM images allowed the visualization of certain dental surfaces with open dentinal tubules and without smear layer, which provides superior penetration and adhesion of the experimental material.

The originality and innovative contributions of the thesis

The complexity of root canal treatment allows the innovative intervention of the researcher in the desire to provide the practitioner with new and improved materials and techniques, leading to an increase in treatment success. The validation of a new sealer involves a conceptual improvement in the composition in order to meet most of the requirements for the use of such a product. Thanks to personal efforts and to those of the researchers from "Raluca Ripan" Institute for Research in Chemistry, a bioceramic-based experimental product was designed to improve the qualities of sealers that are already in use in daily practice.

Compared to the conventional sealer - Total Fill BC Sealer, the experimental sealer was developed using resin and it is both a photo-polymerized and dual-polymerized adhesive.

Qualitative analysis of this new material was made based on a scientific and modern methodology required by international standards. Thus, research was conducted based on antimicrobial effects, radiopacity, scanning electron microscopy, infrared spectrophotometry. Atomic force microscopy was used for the first time in the last study (the method had not been employed in endodontics before) and proved to be effective, compelling and useful.

We believe that the harmonious use of apparently different scientific methods can lead to results that might be used in practice as part of convincing applications based on clear scientific evidence.

In this context, the new experimental bioceramic-based root canal sealer is an original accomplishment, which may become part of the range of products used in root canal treatment.