

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CENTRO INTEGRADO DE SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PPG – MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

Paulo de Ramos Esteves Ildfonso

**ESTUDO, *IN VITRO*, SOBRE A CONTAMINAÇÃO DE CIMENTOS
ENDODÔNTICOS IMEDIATAMENTE E APÓS UTILIZAÇÃO**

Juiz de Fora
2010

PAULO DE RAMOS ESTEVES ILDEFONSO

**ESTUDO, *IN VITRO*, SOBRE A CONTAMINAÇÃO DE CIMENTOS
ENDODÔNTICOS IMEDIATAMENTE E APÓS UTILIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao PPG –
Mestrado em Clínica Odontológica da
Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal de Juiz de Fora,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre. Área de
concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Celso Neiva Campos

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Nádia Resende Barbosa Raposo

Juiz de Fora

2010

Ildefonso, Paulo de Ramos Esteves.

Estudo, in vitro, sobre a contaminação de cimentos endodônticos imediatamente e após utilização / Paulo de Ramos Esteves Ildefonso. – 2010.

87 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2010.

1. Materiais dentários - análise. I. Título.

CDU 615.461

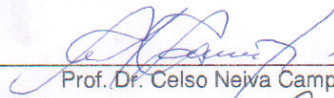
**“Estudo, *IN VITRO*, sobre a contaminação de cimentos
endodônticos imediatamente e após utilização”**

PAULO DE RAMOS ESTEVES ILDEFONSO

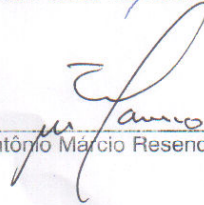
ORIENTADOR: Prof. Dr. Celso Neiva Campos

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários à obtenção do
título de Mestre em Clínica Odontológica.

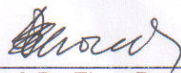
Aprovado (a) em 09/11/2010



Prof. Dr. Celso Neiva Campos



Prof. Dr. Antônio Márcio Resende do Carmo



Prof. Dr. Elson Braga de Mello

A você *Lucila*, minha querida esposa e companheira, pela ajuda, incentivo, companheirismo, compreensão e pelo amor que tanto me fazem sentir feliz, me devolvendo o equilíbrio nos momentos em que as dificuldades surgem.

Ao *Thales* e *Ana Lúvia*, meus filhos, pelos sorrisos e cada luz do seu olhar, que são o motivo maior para cada passo de minha vida.

A vocês *Sebastião* e *Terezinha* (*in memoriam*), por terem me encaminhado apesar de tantas adversidades e pelo caráter que, de tão forte e positivo, ainda se mantém como exemplos para seus filhos.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, em primeiro lugar, pelo dom da vida, pois se hoje percorro este caminho é porque vós trilhastes, deste-me sabedoria para aprender a discernir, entusiasmo, alegria, coragem para lutar e força para vencer mais esta etapa em minha vida.

Aos *meus queridos irmãos José Maria e Dirceu e suas famílias*, sempre torcendo por mim e dispostos a ajudar-me em qualquer momento. Obrigado pelos momentos de carinho, alegria, amizade e que o amor que nos une dure para sempre!

Ao *Magnífico Reitor, Professor Doutor Henrique Duque de Miranda Chaves Filho*, um agradecimento especial, pois é de conhecimento vossa luta em trazer o Curso de Mestrado em Clínica Odontológica para a Universidade Federal de Juiz de Fora.

À *Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora*, representada pelo seu *Diretor, Professor Doutor Antônio Márcio Resende do Carmo*, com profunda gratidão, por tudo que me ofereceu.

De forma muito carinhosa ao *meu orientador, Professor Doutor Celso Neiva Campos*, pelo tamanho caráter que eu jamais vi em pessoa alguma; pelo grande exemplo de inteligência, humildade, ética, dedicação à pesquisa, sabedoria, inspiração divina, caráter, competência, paciência, respeito, e sem dúvidas um grande exemplo de pesquisador e orientador. Para pessoas como o senhor, mesmo que muitas palavras fossem escritas, ainda assim seriam poucas para descrever a grandiosa pessoa que o senhor é. Orgulho-me de tê-lo como modelo de ser humano e profissional. Obrigado pelas oportunidades oferecidas que em muito contribuíram para a minha formação profissional.

À *Professora Doutora Nádia Resende Barbosa Raposo, minha Co-orientadora*, meus agradecimentos pela credibilidade, atenção e carinho. Com rigor e disciplina me repassou os conhecimentos necessários para que eu pudesse chegar até aqui. Espero ter correspondido às suas expectativas.

Ao meu grande mestre *Professor Doutor Carlos Alberto Campos*, com quem eu tive o meu primeiro contato com a Endodontia. Minha eterna gratidão pelos conhecimentos transmitidos, pelo exemplo profissional, pelo estímulo e atenção dispensada sempre que solicitado quando um iniciante aprendiz.

À *Professora Doutora Maria das Graças Afonso de Miranda Chaves*, coordenadora do Curso de Mestrado em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela atenção, profissionalismo e pela competência frente à coordenação do curso.

Aos *Professores do Curso de Mestrado*, pelos ensinamentos transmitidos com profissionalismo e dedicação e pela amizade conquistada.

Às *Professoras Doutoradas Ivone de Oliveira Salgado e Marília Nalon Pereira*, pelo estímulo e apoio para meu ingresso no Mestrado.

Aos colegas da 3ª turma de Mestrado da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela amizade, companheirismo e horas compartilhadas ao longo desses dois anos. Espero que nossa amizade perdure aonde quer que estejamos.

À *Faculdade de Farmácia e Bioquímica* da Universidade Federal de Juiz de Fora, que com presteza e atenção cedeu o laboratório NIQUA para a realização deste trabalho.

À *profissional Natália* da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela paciência, contribuição com conhecimentos, apoio técnico prestado nas análises microbiológicas.

Aos *funcionários* da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela maneira fraterna com que sempre se relacionaram comigo.

Aos *amigos da Equipe 24 (Equipe de Nossa Senhora das Mercês)*, pelo apoio, incentivo e orações.

A *todos* que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização e finalização deste trabalho.

Por fim, mas não menos importante, aos *meus pacientes*, pelo carinho e compreensão nos momentos em que não foi possível atendê-los prontamente.

A todos, minha eterna gratidão...

“Quando iniciamos esta aventura chamada “vida”, não sabemos das incúveis alegrias e tristezas que experimentaremos à frente, nem temos boa noção do quanto precisamos uns dos outros...

Mas, ao chegarmos ao fim da vida, já sabemos muito bem o quanto cada um foi importante para nós”!

(Autor desconhecido)

ILDEFONSO, P. R. E. **Estudo, *in vitro*, sobre a contaminação dos cimentos endodônticos imediatamente e após utilização.** 2010. 87 f. Dissertação (Curso de Pós-Graduação *Scripto Sensu* – Mestrado em Clínica Odontológica) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora (MG).

RESUMO

Este estudo objetivou analisar, *in vitro*, a contaminação por microrganismos de seis cimentos endodônticos: dois à base de óxido de zinco e eugenol (EndoFill[®] e Fillcanal[®]), dois à base de resina epóxica (Sealer 26[®] e AH Plus[®]) e dois à base de Hidróxido de cálcio (Sealapex[®] e MTA Fillapex[®]), comumente utilizados nas clínicas odontológicas, no momento do rompimento do lacre e após sete, 14 e 28 dias. Os materiais pesquisados foram divididos em grupos e subgrupos: Grupo 1) EndoFill[®]: A – pó, B – líquido, C – cimento; Grupo 2) FillCanal[®]: A – pó, B – líquido, C – cimento; Grupo 3) Sealer 26[®]: A – pó, B – resina, C – cimento; Grupo 4) AH Plus[®]: A – pasta A, B – pasta B, C – cimento; Grupo 5) Sealapex[®]: A – pasta base, B – pasta catalizadora, C – cimento; Grupo 6) MTA Fillapex[®]: A – pasta base, B – pasta catalizadora, C – cimento; e, posteriormente colocados em 4 mL dos meios de cultura *Tryptone Soya Broth* e caldo infusão cérebro e coração, meios seletivos para bactérias e *Sabouraud Dextrose Broth*, meio seletivo para fungos, sendo incubados, respectivamente a 37°C por 48 horas e a 25°C por 120 horas, em triplicata. Posteriormente foi realizada a agitação e repique dos caldos em microplaca de 96 poços contendo meios específicos para o crescimento de bactérias e fungos. As placas com o meio específico para o crescimento de bactérias foram incubadas a 37°C por 48 horas e as com meio específicos para fungos, mantidas a 25°C por 120 horas. Como controle positivo foi utilizado *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Para controle negativo foi adicionado aos meios de cultura 1 mL de solução NaCl a 0,9%. De acordo com a metodologia utilizada, os cimentos testados foram resistentes à contaminação oferecida pelo meio, podendo considerar um fator positivo em relação aos requisitos para alcançar o sucesso do tratamento endodôntico.

Palavras-chave: Cimentos endodônticos. Microrganismos. Contaminação.

ILDEFONSO, P. R. E. *In vitro study on contamination of cements endodontic immediately and after use*. 2010. 87 f. Dissertação (Curso de Pós-Graduação *Scripto Sensu* – Mestrado em Clínica Odontológica) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora (MG).

ABSTRACT

*This study examines, in vitro, contamination by microorganisms of six cements endodontic: two based on zinc oxide and eugenol (EndoFill[®] and Fillcanal[®]), two based on epoxy resin (Sealer 26[®] and AH Plus[®]) and two based on calcium hydroxide (Sealapex[®] and MTA Fillapex[®]), commonly used in dental clinics, at the time of breakup of seal and after seven, 14 and 28 days. The materials studied were divided into groups and subgroups: Group 1) EndoFill[®]: A – powder, B – liquid, C – cement; Group 2) Fillcanal[®]: A – powder, B – liquid, C – cement; Group 3) Sealer 26[®]: A – powder, B – resin, C – cement; Group 4) AH Plus[®]: A – folder A, B – folder B, C – cement; Group 5) Sealapex[®]: A – base folder, B – catalyst folder, C – cement; Group 6) MTA Fillapex[®]: A – base folder, B – catalyst folder, C – cement; and then placed in 4 mL of culture medium Tryptone Soya Broth and Brain Heart Infusion Broth, selective media for bacteria and Sabouraud Dextrose Broth, selective medium for fungi and incubated respectively at 37°C for 48 hours at 25°C for 120 hours, in triplicate. Was subsequently held agitation and chiming of broths in 96 wells microplates under conditions of containing specific means for the growth of bacteria and fungi. The plates with the specific medium for growing bacteria were incubated at 37°C for 48 hours and the specific plating for fungi, kept at 25°C for 120 hours. As positive control were used *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. For negative control was added to culture media 1 mL of NaCl 0.9%. According to the methodology used, the cements tested were resistant to contamination offered by the medium and can be considered a positive factor in relation to requirements for success of endodontic treatment.*

Keywords: Endodontic cements. Microorganisms. Contamination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Quadro demonstrativo dos cimentos pesquisados.....	59
Figura 2 –	Fotografias dos cimentos dos grupos G1, G2 e G3.....	60
Figura 3 –	Fotografias dos cimentos dos grupos G4, G5 e G6.....	60
Figura 4 –	Fotografias da manipulação dos cimentos no interior da capela de fluxo laminar.....	61
Figura 5 –	Fotografias da coleta das amostras em capela de fluxo laminar.....	62
Figura 6 –	Fotografia do condicionamento das amostras em tubos de ensaio estéreis contendo meio enriquecido para bactérias e fungos.....	62
Figura 7 –	Fotografias da pesagem do pó, da pasta e do cimento em balança analítica – FFB/UFJF.....	63
Figura 8 –	Fotografia de tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL do meio de cultura <i>Tryptone Soya Broth</i> (TSB).....	64
Figura 9 –	Fotografia de tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL do meio de cultura caldo infuso cérebro e coração (BHI).....	65
Figura 10 –	Fotografia de tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL do meio de cultura <i>Sabouraud Dextrose Broth</i> (SDB).....	65
Figura 11 –	Fotografias de tubos turvos (controle positivo) e límpidos (controle negativo).....	66
Figura 12 –	Fotografia da microplaca estéril de 96 poços onde foram inseridos 175 µL de cada meio de cultura.....	67
Figura 13 –	Quadro representativo da microplaca de 96 poços com as soluções testadas e controle em triplicata.....	67
Figura 14 –	Fotografias dos tubos (A) e da microplaca (B) contendo meio de cultura TSB isentos de contaminação após 28 dias.....	68
Figura 15 –	Fotografias dos tubos contendo o meio de cultura BHI isentos de contaminação após sete dias e da microplaca contendo o mesmo meio de cultura isenta da contaminação após 14 e 18 dias.....	68
Figura 16 –	Fotografias dos tubos contendo o meio de cultura SDB isentos de contaminação após 14 dias e da microplaca o mesmo meio de cultura isenta de contaminação no tempo “0” e após sete dias.....	69

LISTA DE TABELAS

Figura 1 – Preparo das diluições dos grupos e subgrupos.....	63
Figura 2 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, no tempo “0”	69
Figura 3 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, após sete dias.....	70
Figura 4 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, após 14 dias.....	70
Figura 5 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, após 28 dias.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

EDTA	- Ácido etilenodiaminotetracético
Ágar MH	- Ágar <i>Mueller-Hinton</i>
BHI	- <i>Brain Heart Infusion</i> (meio de cultura)
NaCl	- Cloreto de sódio
CO ₂	- Dióxido de carbono
FO	- Faculdade de Odontologia
°C	- Graus Celcius (grandeza de temperatura)
H ₂	- Hidrogênio
Ca(OH ₂)	- Hidróxido de cálcio
NaClO	- Hipoclorito de sódio
=	- Igual
log ₁₀	- Logaritmo na base 10
®	- Marca registrada
µL	- Microlitros
mg/mL	- Miligramas por mililitros
mL	- Mililitros
mm	- Milímetros
MTA	- Mineral Trióxido Metálico
mol	- Moléculas
nm	- Nanômetros
-	- Negativo
N ₂	- Nitrogênio
NIQUA	- Núcleo de Identificação e Quantificação
nº.	- Número
OZE	- Óxido de zinco e eugenol
%	- Percentual
pg/mL	- Picogramas por mililitros
+	- Positivo
pH	- Potencial hidrogeniônico
PCR	- Reação em cadeia da polimerase

- SDB - *Sabouraud Dextrose Broth* (meio de cultura)
- PBS - Solução salina tamponada com fosfato
- DCT - Teste de contato direto
- ADT - Teste de difusão em Ágar
- TSA - Teste de sensibilidade aos antibióticos
- TSB - *Tryptone Soya Broth* (meio de cultura)
- UFC - Unidade formadora de colônias
- UFC/mL⁻¹ - Unidade formadora de colônias por mililitros
- UFJF - Universidade Federal de Juiz de Fora

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3 PROPOSIÇÃO.....	56
4 METODOLOGIA.....	57
4.1 LOCAL DA PESQUISA.....	57
4.2 TIPO DE ESTUDO.....	57
4.3 MATERIAIS.....	58
4.4 CIMENTOS PESQUISADOS.....	58
4.5 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E DIVISÃO DOS GRUPOS.....	59
4.6 ENSAIO MICROBIOLÓGICO.....	63
5 RESULTADOS.....	68
6 DISCUSSÃO.....	72
7 CONCLUSÃO.....	77
REFERÊNCIAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

A fase da obturação deve receber um grande grau de atenção durante o tratamento dos canais radiculares. Historicamente, essa etapa tem sido considerada o passo mais crítico e a causa da maioria das falhas do tratamento (GLICKMAN; WALTON, 2010).

O tratamento endodôntico bem sucedido exige adequada limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares, bem como o seu selamento hermético com um material inerte, dimensionalmente estável e biologicamente compatível (SCARPARO; GRECCA; FACHIN, 2009).

A obturação consiste no estágio final do tratamento endodôntico. Os cones de guta-percha associados a cimentos obturadores são os materiais mais frequentemente utilizados para este fim, sendo que os cimentos endodônticos têm por finalidade completar a obturação do sistema de canais radiculares, preenchendo os espaços não ocupados pelos cones de guta-percha, o que previne a contaminação ou recontaminação dos mesmos (WALTON; JOHNSON, 1998; JOHNSON; GUTMAN, 2007). Os cones, representativos da parte sólida, e os cimentos obturadores (parte plástica) têm como função preencher todos os espaços vazios modelados anteriormente pela instrumentação, promovendo uma obturação tridimensional a mais hermética possível e combatendo os microrganismos que escaparam da ação do preparo biomecânico e do curativo de demora (BELTES et al. 1995). Deste modo, para impedir que microorganismos consigam reinfetar o canal radicular é preciso que o cimento apresente adequadas propriedades químicas, físicas e biológicas, promovendo um bom selamento (SIQUEIRA JÚNIOR; ROÇAS; LOPES, 1999).

Na prática odontológica a eliminação ou a redução acentuada dos microrganismos do sistema de canais radiculares no preparo químico-mecânico, constitui um dos principais fatores para o sucesso da terapia endodôntica. Durante este procedimento o profissional deve observar com rigor os cuidados de assepsia para evitar a contaminação dos instrumentos endodônticos e materiais obturadores e, também, para evitar a infecção cruzada durante o tratamento.

Vários são os fatores que levam o profissional a realizar o retratamento endodôntico, destacando-se entre eles, a pobre qualidade do selamento do sistema de canais radiculares. Acrescenta-se a condição asséptica da terapia que, por ser uma microcirurgia, deve ser encarada com todo rigor asséptico como qualquer outro procedimento cirúrgico. Assim, o insucesso do tratamento endodôntico, na maioria dos casos, ocorre devido a procedimentos insatisfatórios de controle e eliminação da infecção que pode advir, também, da resistência de determinadas bactérias aos métodos químicos e mecânicos utilizados na terapia endodôntica convencional. Parece, assim, ficar evidente o papel da obturação do canal radicular em relação ao sucesso do tratamento (HOEN; PINK, 2002).

O fator microbiológico é apontado como a maior causa de falhas na terapia de canais radiculares. Vários estudos reportam à natureza das infecções dos canais radiculares de dentes com tratamento endodôntico prévio associados a lesões periapicais (ADIB et al., 2004; CHEUNG; HO, 2001; EGAN et al., 2002; GOMES et al., 2004a,b; HANCOCK et al., 2001; PECIULIENE et al., 2000, 2001; PINHEIRO et al., 2003; RÔÇAS et al., 2004; RÔÇAS; SIQUEIRA JÚNIOR; SANTOS, 2004; ROLPH et al., 2001; SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2002; SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2004; SUNDQVIST et al., 1998). Os principais microrganismos presentes em dentes onde o tratamento endodôntico falhou são as bactérias Gram-positivas anaeróbias facultativas, podendo estas, estarem associadas a espécies de comportamento variado na presença ou não de oxigênio (ADIB et al., 2004; CHAVEZ DE PAZ; MOLANDER; DAHLÉN, 2004; HANCOCK et al., 2001; PINHEIRO et al., 2003; SUNDE et al., 2002).

São poucas as espécies encontradas nos canais de dentes que foram submetidos à terapia endodôntica e que, durante a preservação, revelaram radiolucências periapicais persistentes (NAIR, 2006). Dentre esses, o *Enterococcus faecalis* que, apesar de apresentar-se em pequena proporção na infecção endodôntica primária, tem importante papel na etiologia destas infecções, após tratamento do canal radicular (DAHLÉN et al., 2000; KAUFMAN et al., 2005; PINHEIRO et al., 2003, STUART, et al., 2006), sendo a espécie mais frequentemente isolada (HANCOCK et al., 2001; PECIULIENE et al., 2000, 2001; RÔÇAS et al., 2004; SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2004). É indiferente se o *E. faecalis* está presente já nas infecções primárias ou se ele se tornou seletivo durante o processo de instrumentação e medicação (CHAVEZ DE PAZ et al., 2003). No entanto, há uma

tendência a acreditar que essa bactéria apresenta-se em pequena percentagem na microbiota infecciosa original e pode ser favorecida pela mudança ecológica, estabelecendo uma infecção de difícil tratamento (FERRARI; CAI; BOMBANA, 2005; PINHEIRO et al., 2003).

Embora fungos sejam apenas ocasionalmente encontrados em infecções endodônticas primárias, estes microrganismos têm sido mais frequentemente isolados em casos de infecções endodônticas secundárias ou persistentes, muitas vezes associadas ao fracasso da terapia endodôntica. Alguns estudos sugerem que fungos podem ser resistentes à terapia endodôntica (EGAN et al., 2002; PECIULIENE et al., 2001; PINHEIRO et al., 2003). Tem sido demonstrado que espécies de *Candida sp.* apresentam resistência a medicamentos e substâncias comumente empregados na Endodontia, como o hidróxido de cálcio [Ca(OH₂)] associado a veículos inertes (HANCOCK et al., 2001; PECIULIENE et al., 2001; SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2004; SUNDQVIST et al., 1998).

Em síntese, as pesquisas realizadas têm demonstrado a prevalência de bactérias anaeróbias facultativas e Gram-positivas quando se investiga a microbiota persistente após as manobras de preparo químico-mecânico e de medicação intracanal e em casos de canais previamente tratados endodonticamente, com persistência de lesão perirradicular (CHAVEZ DE PAZ et al., 2003; DAHLÉN et al., 2000; FERRARI; CAI; BOMBANA, 2005; PECIULIENE et al., 2000; RÔÇAS; SIQUEIRA JÚNIOR; SANTOS, 2004; SUNDQVIST et al., 1998).

A influência do cimento obturador no resultado final do tratamento endodôntico é ainda um assunto controverso, principalmente pelo fato de as pesquisas registradas na literatura apresentarem dados controversos. A busca pelo material obturador ideal promove o surgimento de uma gama de cimentos obturadores disponíveis no mercado. Porém, estudos têm sido realizados na tentativa de responder à seguinte pergunta: qual o melhor cimento obturador a ser utilizado na Endodontia?

As propriedades dos cimentos endodônticos podem ser biológicas e físico-químicas. Dentre as várias propriedades biológicas apresentadas pelos cimentos endodônticos, a atividade antimicrobiana tem um papel importante na eficácia deste material durante a obturação do canal. **Estudos enfocando a capacidade antimicrobiana dos cimentos endodônticos já foram realizados (CRUZ et al., 2001; ÇOBANKARA et al., 2004; DESAI; CHANDLER, 2009;**

DISTEL; HATTON; GILLESPIE, 2002; PIZZO et al., 2006; TANOMARU FILHO et al. 2007). Esta atividade torna-se fundamental para evitar contaminação durante a fase de manipulação bem como para completar o efeito antimicrobiano da medicação intracanal (LEAL, 1998, MICKEL; NGUYEN; CHOGLÉ, 2003). Entretanto, verifica-se ainda, resistência a alguns microrganismos, principalmente do *E. faecalis*, frente à ação antisséptica da medicação intracanal (SIQUEIRA JÚNIOR; RÔÇAS, 2004; SUNDQVIST et al., 1998).

Os cimentos endodônticos devem ser materiais que preencham os túbulos dentinários, unam-se intimamente às fases orgânicas e inorgânicas da dentina, destruam ou neutralizem microrganismos e seus subprodutos, induzam a neoformação cementária e fortaleçam o sistema de canais radiculares. Nessa perspectiva, todos os cimentos utilizados podem ser considerados inadequados (DE DEUS et al., 2002).

As técnicas de obturação procuram lançar mão de maior quantidade de guta-percha e menor película de cimento, pois este representa a porção frágil da obturação. Ainda assim, os cimentos endodônticos têm importante papel no controle da percolação apical, escoando para as ramificações e melhorando a adaptação da obturação nas irregularidades da interface da dentina com o material obturador (KOKKAS et al., 2004). Porém, existem controvérsias quanto à eficiência das técnicas de limpeza e modelagem empregadas em Endodontia, como também sobre os materiais e técnicas empregados para a obturação dos canais radiculares. Diante deste fato, os pesquisadores estão em busca de um produto que tenha propriedades biológicas e que se difunda para todo o sistema de canais radiculares, agindo à distância, destruindo os microrganismos aeróbios e anaeróbios ou deixando o meio impróprio ao seu desenvolvimento (ORTEGA CRUZ, 2006).

Não se obtém o sucesso do tratamento endodôntico, na maioria das vezes, por não ser possível realizar uma esterilização do sistema de canais radiculares. A literatura tem demonstrado que os microrganismos têm desenvolvido resistência ao preparo químico-cirúrgico e à medicação intracanal, mantendo-se viáveis, no interior dos canais radiculares, após o procedimento obturador. Acrescenta-se, ainda, a possibilidade de recontaminação do curativo de demora e da obturação devido às falhas de manipulação ou à perda do selamento coronário (ADIB et al., 2004; SHIPPER et al., 2005). Em caso de material obturador contaminado, o retratamento endodôntico é indicado (GABARDO et al., 2009).

Pelo exposto, pode-se observar que a contaminação do canal radicular é um dos principais fatores para o insucesso da terapêutica endodôntica. Assim, é grande a preocupação em manter os instrumentos intracanaís e os cones de obturação estéreis ou desinfetados, bem como a utilização de antimicrobianos na lavagem da cavidade pulpar ou como curativos entre sessões do tratamento.

Destarte, a grande dúvida que norteia este estudo é que muito se tem estudado sobre a atividade antimicrobiana dos cimentos obturadores dos canais radiculares, mas pouco se conhece a despeito da contaminação presente nos frascos desses materiais. E ainda, se existe presença de microrganismos no cimento imediatamente antes de ser inserido para o interior dos canais radiculares no momento da obturação.

Diante destes fatos, este estudo centrou-se em verificar, *in vitro*, a presença ou não de contaminação em alguns tipos de cimentos endodônticos, antes e após sua manipulação visando proteger o endodontista em sua tarefa e despertar a atenção da indústria para o fato.

Este estudo apresentou como hipótese nula a ausência de crescimento de microrganismos nos cimentos endodônticos (Endofill[®], Fill Canal[®], AH Plus[®], Sealer 26[®], Sealapex[®], MTA Fillapex[®]) e seus constituintes, pesquisados nos intervalos de tempo zero (rompimento do lacre), sete, 14, e 28 dias.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O cimento endodôntico além de ser biocompatível, deve possuir atividade antimicrobiana para destruir os microrganismos que tenham sobrevivido ao preparo químico-mecânico. Materiais seladores com esta propriedade podem eliminar os patógenos presentes em canais com microinfiltração, prevenindo assim a entrada ou saída de microrganismos do sistema de canais radiculares.

Duarte, Weckwerth e Moraes (1997) avaliaram o poder antimicrobiano dos cimentos Endomethasone[®], AH 26[®], Sealer 26[®], Sealer 26[®] acrescido de 5% de hexametilenotetramina, Sealer 26[®] acrescido de 10% de hexametilenotetramina, Sealapex[®] e pasta aquosa de [Ca(OH)₂] frente aos seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); *E. faecalis* (ATCC 29212); *Streptococcus mutans*; *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); *Klebsiella sp.* e *Candida albicans*. Foi utilizado o meio de cultura Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) (Merck[®]), para as bactérias e o *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) e para a levedura, *C. albicans*. Após 18 e 24 horas de incubação, as culturas foram diluídas em solução fisiológica estéril até se obter uma turbidez visualmente comparada ao padrão 0,5 da escala de Mac Farland (aproximadamente 10⁸ microrganismos/mL). Essa diluição foi imediatamente semeada sobre o meio de cultura Ágar já com as escavações (6 X 3 mm) para receber as substâncias em placas de Petri de 15 X 150 mm e aguardou-se 30 minutos. Após a manipulação dos materiais, as misturas foram levadas às escavações aguardando-se novamente, um período de 30 minutos e as placas foram armazenadas em estufa a 37°C. Em geral, o ambiente utilizado para a cultura foi em aerobiose. Para o *S. mutans* e o *S. aureus*, além da aerobiose, o experimento foi efetuado, também, em microaerofilia. A leitura e medição dos halos de inibição foram realizadas após 24 e 48 horas. O método de escolha para a avaliação da ação antimicrobiana das substâncias foi difusão do agente de forma radial no Ágar de cultura. A sensibilidade dos microrganismos foi detectada pela presença ou não dos halos de inibição, os quais foram medidos utilizando uma régua milimetrada e luminosidade. Os resultados mostraram que o Endomethasone[®] apresentou os maiores halos de inibição do crescimento bacteriano e que o acréscimo de hexametilenotetramina acarretou um aumento nos halos proporcionados pelo Sealer

26[®]. O cimento Sealapex[®] e a pasta de Ca(OH)₂ não inibiram os microrganismos testados. Concluíram que o cimento Endomethasone[®] apresentou ação contra todos os microrganismos testados, tendo a melhor desempenho dos materiais utilizados. O cimento AH 26[®] foi mais efetivo que o Sealer 26[®]. A adição de 5 ou 10% de hexametilenotetramina ao pó do Sealer 26[®] aumentou seus valores de inibição, principalmente com 10%.

Fuss, Weiss e Shalhav (1997) analisaram a atividade antimicrobiana dos cimentos contendo Ca(OH)₂ (Sealapex[®] e CRCS[®]) em comparação com um cimento contendo óxido de zinco e eugenol (OZE) (Roth[®]) utilizando o teste de contato direto. Os cimentos, após espatulação, foram colocados na parede lateral de poços de microplacas. Uma suspensão de 10 mL de *E. faecalis* foi adicionada à superfície dos cimentos 1 hora, 24 horas e sete dias após a manipulação. As bactérias foram colocadas em contacto com os cimentos por 1 hora a 37°C. Meio úmido foi adicionado e, em seguida, o crescimento bacteriano foi medido a cada 30 minutos durante 16 horas. Os resultados mostraram que, em 1 hora de manipulação, os cimentos CRCS[®] e Roth[®] tiveram um efeito antimicrobiano significativamente melhor do que Sealapex[®]. Nas misturas de 24 horas, o cimento contendo OZE mostrou uma atividade antimicrobiana mais potente que os cimentos contendo Ca(OH)₂, enquanto o Sealapex[®] apresentou um efeito antimicrobiano significativamente melhor no sétimo dia de espatulação. A atividade antimicrobiana de cada cimento, nos diferentes tempos de manipulação, sugeriu potenciais distintos com relação às propriedades físico-químicas de cada cimento para aplicações clínicas.

Kaplan et al. (1999) determinaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano de seis cimentos endodônticos (Apexit[®], Endion[®], AH 26[®], AH Plus[®], Procosol[®] e Ketac Endo[®]) após dois, 20 e 40 dias. Os microrganismos utilizados foram *C. albicans*, *S. aureus*, *S. mutans* e *Actinomyces israelii*. As placas Petri com Ágar e os cimentos foram armazenadas a 37°C por 24 horas. As amostras foram retiradas, imersas em 4,5 mL de cultura, e divididas em três grupos: G1) armazenadas por dois dias a 37°C; G2 e G3) armazenadas a 4°C por 20 e 40 dias, respectivamente. Posteriormente foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). Os resultados revelaram que Apexit[®], Endion[®] e AH-Plus[®] produziram ligeira inibição sobre o *S. mutans* em 20 dias e *A. israelii* em cada intervalo de tempo. Nenhum efeito foi encontrado para *S. aureus* e *C. albicans*. Ketac Endo[®] só produziu

um efeito antimicrobiano sobre *A. israelii* em dois e 40 dias. O AH 26[®] e Procosol[®] mostraram efeito antimicrobiano em 40 dias para *Candida albicans*; em 20 e 40 dias sobre o *S. mutans* e *S. aureus*, e uma inibição eficaz sobre *A. israelii* em todos os intervalos de tempos. Concluíram que os cimentos avaliados mostraram diferentes efeitos inibitórios dependentes do tempo. Globalmente, cimentos contendo eugenol e formaldeído comprovaram sua eficácia contra os microrganismos nos intervalos de tempo estudados.

Estrela et al. (2000) investigaram a ação antimicrobiana do agregado trióxido mineral (MTA) (Dentsply[®]), cimento Portland[®], pasta de Ca(OH)₂ (CHP[®]), Sealapex[®] e Dycal[®]. Foram utilizadas quatro cepas bacterianas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *C. albicans* que foram inoculadas em 5 mL de infusão de BHI (Difco[®]) e incubadas a 37°C por 24 horas. Seguindo as mesmas condições de incubação, foram resuspensas em solução salina para obtenção da concentração final de aproximadamente 3 X 10⁸ células/mL, similar à do tubo n^o. 1 da escala de MacFarland. Na sequência, 1 mL de cada suspensão foi usado para obter uma mistura dos microrganismos teste. Para o teste de difusão Ágar, 30 placas de Petri com 20 mL de BHI foi inoculada com 0,1 mL das suspensões utilizando swab estéreis. Três cavidades, cada uma medindo 4 X 4 mm, foram feitas em cada placa e, em seguida, completamente preenchidas com os materiais a serem testados. As placas foram pré-incubadas por 1 hora, em temperatura ambiente e, a seguir, incubadas a 37°C por 48 horas. Os diâmetros das zonas de inibição e de difusão microbiana foram medidos. Amostras dos halos de difusão e inibição foram extraídas de cada placa e imersas em 7 mL de BHI e incubadas a 37°C por 48 horas. Os controle positivo e negativo foram feitos mantendo as placas nas mesmas condições de incubação e os testes foram realizados em triplicata. Os resultados mostraram que a atividade antimicrobiana da pasta de Ca(OH)₂ foi superior a todas as outras substâncias (MTA[®], Portland[®], Sealapex[®] e Dycal[®]), sobre todos os microrganismos, apresentando zonas de inibição com 6,0 a 9,5 mm e zonas de difusão variando de 10 a 18 mm. O MTA[®], Portland[®] e o Sealapex[®] apresentaram somente zonas de difusão e, dentre estes, o Sealapex[®] apresentou a maior zona (10 a 18 mm). Zonas de difusão produzidas pelo cimento Portland[®] e MTA[®] em *S. aureus*, *P. aeruginosa* e na mistura dos microrganismos variaram de 7 a 8 mm, respectivamente; *B. subtilis* e *C. albicans* foram semelhantes para esses

produtos. O cimento Portland[®] mostrou uma zona de difusão de 16 mm e o MTA[®] uma zona de difusão de 14 mm para o *E. faecalis*. O Dycal[®] não apresentou halos de inibição e de difusão. Concluíram que são necessários novos estudos comparativos do MTA[®], cimento Portland[®] e Ca(OH)₂ devido às semelhanças entre os mecanismos de ação do Ca(OH)₂ e MTA[®] e a presença dos mesmos elementos químicos destas substâncias.

Leonardo et al. (2000) avaliaram a atividade antimicrobiana de quatro cimentos endodônticos (AH Plus[®], Sealaex[®], Ketac-Endo[®] e Fill Canal[®]), duas pastas de Ca(OH)₂ (Calen[®] e Calasept[®]) e pasta de óxido de zinco e eugenol. Utilizaram seis linhagens de bactérias: *Micrococcus luteus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli* e *E. faecalis* e uma linhagem isolada da saliva de um adulto. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método da difusão em Ágar com os meios de cultura BHI e *Müller-Hinton*. As pastas e cimentos a base de Ca(OH)₂ foram colocados em poços de 04 X 04 mm ou em cones de papel absorvente. Foram mantidas à temperatura ambiente por 2 horas para difusão. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 2 horas. O meio de cultura foi otimizado com 5 mL de gel de TCC (1% de Ágar e 0,05% de cloreto de trifeniltetrazolio) e, posteriormente, o halo de inibição foi medido. Todas as linhagens foram inibidas por todos os materiais testados, utilizando o método do poço. Entretanto, quando o material foi aplicado em cones de papel absorvente, o *E. faecalis* não foi inibido pelo OZE; a *P. aeruginosa* não foi inibida pelo AH Plus[®], Fill Canal[®] e pelo OZE. Concluíram que as pastas e cimentos utilizados apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* e a otimização do meio de cultura com gel de TCC facilitou a observação dos halos de inibição.

Por meio do teste de contato direto e do teste de difusão em Ágar, utilizando o *E. faecalis* como microrganismo teste, Fuss et al. (2000) avaliaram as propriedades antimicrobianas de três cimentos endodônticos: AH26[®], Roth[®] e CRCS[®], em quatro consistências, clinicamente aceitáveis de acordo com as recomendações dos fabricantes, alterando as relações pó-pasta ou pó-líquido. Os cimentos manipulados foram numerados de 1 a 4, correspondentes ao mais firme e ao mais fluido. Para o teste de difusão em Ágar (ADT), as amostras foram utilizadas no prazo de 20 minutos a partir da manipulação. Para o teste de contato direto (DCT), dois conjuntos de amostras foram preparados, recém-manipulados e após

incubação a 37°C por 24 horas em atmosfera úmida. Os resultados revelaram que no teste de contato direto, os cimentos Roth® e CRCS® exibiram completa inibição do crescimento bacteriano em todas as consistências, enquanto, o AH26®, de consistência mais firme, não inibiu o crescimento bacteriano das amostras de 24 horas. No teste de difusão em Ágar, a consistência mais fluida do cimento Roth® mostrou maiores halos de inibição que a consistência firme, enquanto nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre AH26® ou CRCS®. Concluíram que, de acordo com sua consistência, os cimentos endodônticos possuem diferentes propriedades antimicrobianas.

Utilizando o teste de difusão em Ágar, Siqueira Júnior et al. (2000) compararam o efeito antimicrobiano de vários cimentos endodônticos (cimento de Grossman®, Sealer 26®, AH Plus®, ThermaSeal®, Sealer Plus® e Kerr Pulp Canal Sealer EWT®). Foram utilizados como microrganismos: anaeróbios obrigatórios (*Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis*); bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas (*Streptococcus mitis* – isolado clínico, *Streptococcus bovis* – isolado clínico, *E. faecalis* e um isolado clínico, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Lactobacillus casei*; levedura *C. albicans*) e uma amostra de saliva total obtido a partir de um dos autores. A levedura e bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas foram cultivadas em Trypticase caldo de soja, e anaeróbios foram cultivadas em anaerobiose em meio estéril pré-reduzido BHI suplementado com hemina (5 pg/mL) e vitamina K (1 pg/mL). Placas de Ágar inoculado com a cultura mista ou anaeróbia bactérias foram incubadas em frascos anaeróbios a 37°C por cinco dias. Placas de Ágar inoculado com os outros microrganismos foram incubadas aerobicamente a 37°C por 24 a 48 horas. O efeito antimicrobiano de cada material foi determinado pela medição do diâmetro das zonas de inibição em milímetros. O diâmetro de 6 mm serviu como o valor de corte. Os resultados revelaram que todos os cimentos endodônticos testados mostraram atividade antimicrobiana frente à maioria dos microrganismos utilizados. Independentemente do material, os efeitos inibitórios foram discretos contra a maioria das cepas microbianas testadas. Análise geral dos dados não mostraram diferenças significativas entre os materiais testados. Os microrganismos testados mais resistentes foram *P. aeruginosa*, *E. faecalis* e *E. coli*. A análise estatística demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados, sendo que todos os cimentos endodônticos

obtiveram ação antimicrobiana frente às bactérias utilizadas. Após mensuração dos halos de inibição do crescimento bacteriano os autores concluíram que *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e *E. coli* foram os microrganismos mais resistentes. Tomados em conjunto, os resultados sugeriram que estes cimentos têm o potencial de ajudar no controle microbiano no sistema de canal radicular.

Cruz et al. (2001) avaliaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano dos cimentos Rickert[®], N-Rickert[®], e Sealer 26[®], frente a *S. aureus*, *S. mutans*, *Streptococcus salivarius*, *C. albicans* e microrganismos bucais coletados do sulco gengival de pacientes com periodontite crônica. Os meios de cultura utilizados foram: para a cultura em caldo, meio BHI – *S. mutans*; *S. aureus* e caldo SDB – *C. albicans*. Para o teste de difusão, MH – *S. aureus*; BHI – *S. mutans*; Agar SDB para *C. albicans* e Ágar Brucella adicionado de 5% de sangue humano – isolados de bolsa periodontal. Alíquotas de 0,1 mL de cada microrganismo foram colocadas na superfície de 10 placas de Petri contendo meios de cultura e, a seguir, foram homogeneizadas com espátula Drigalsky. Os meios foram levados para a estufa a 37°C durante 30 minutos. Para os microrganismos bucais foram coletadas amostras de bolsas periodontais de pacientes com periodontite crônica. Os resultados demonstraram que frente a *S. aureus*, o cimento N-Rickert[®], quando comparado com Sealer 26[®], mostrou diferença estatisticamente significativa apresentando na média um halo de inibição maior (28,4 mm) que o Sealer 26[®] (23,5 mm). O efeito inibitório do N-Rickert[®], Sealer 26[®] e Rickert[®] frente a *S. mutans*, *S. salivarius* e *C. albicans* também foram estatisticamente significantes. Os maiores halos, quando as médias foram comparadas, pertenciam, para cada bactéria testada, ao N-Rickert[®] (41,0 mm), ao Rickert[®] (42,6 mm) e ao Sealer 26[®] (28,8 mm). Para os microrganismos coletados da cavidade bucal e incubados em anaerobiose, embora não tenham diferenças estatisticamente significantes, o cimento Sealer 26[®] foi o que proporcionou halo de inibição maior. Concluíram que todos os cimentos apresentaram halos de inibição de crescimento para todas as bactérias testadas. N-Rickert[®] apresentou maior inibição de crescimento para *S. aureus*, *S. mutans* e *C. albicans*, enquanto o cimento Sealer 26[®] inibiu mais o crescimento dos microrganismos bucais e *S. salivarius*.

Lai et al. (2001) avaliaram a ação antimicrobiana pelo tamanho das zonas de inibição de crescimento em superfície do Ágar, de quatro cimentos endodôntico

comumente utilizados (AH26[®], AH Plus[®], N2[®] e Sealapex[®]) contra os microrganismos que podem ser encontrados em polpas, túbulos dentinários, e lesão periapical utilizando o teste de difusão em Ágar. Os microrganismos testados foram: *S. mutans*, *S. sanguis*, *E. coli*, *S. aureus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia*. Quatro poços de 4 mm de profundidade e 6 mm de diâmetro foram perfurados em cada placa de Ágar e preenchidos com os cimentos recém-manipulados. Placas de Ágar inoculadas com os anaeróbios obrigatórios foram colocadas em um meio anaeróbio (Electrotek AW200[®]) fornecido com 5% CO₂, 10% de H₂ e 85% N₂ a 37°C, por uma semana e, para os anaeróbios facultativos, outras placas foram incubadas a 37°C por 24-48 horas. Para controle positivo foram utilizadas placas semeadas com bactérias sem o cimento endodôntico. Os diâmetros das zonas de inibição do crescimento bacteriano foram medidos e registrados, sendo o diâmetro de 6 mm, o valor de corte. Cinco placas de Ágar foram utilizadas para cada cepa bacteriana testada. As zonas de inibição do crescimento bacteriano foram mensuradas após diferentes períodos de incubação (dois dias para espécies anaeróbias facultativas e sete dias para anaeróbios estritos). Os resultados obtidos para *P. endodontalis*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* e *P. intermedia* demonstrou ser N2[®] o cimento com maior ação antibacteriana. Não houve uma grande diferença entre dois cimentos à base de resina, AH26[®] e AH Plus[®]. Sealapex[®] não foi eficaz contra os anaeróbios obrigatórios. N2[®], AH26[®] e AH Plus[®] demonstraram grandes zonas de inibição contra todas as bactérias testadas. Não houve grande diferença entre N2[®] e AH26[®] frente ao *S. mutans* e *S. aureus*. As cepas de *E. coli* e *S. sanguis* foram mais sensíveis ao N2[®] que ao AH26[®]. AH Plus[®] exibiu o mínimo de eficácia contra *S. mutans*. Sealapex[®] apresentou menor atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e foi ineficaz contra *S. sanguis*. O cimento endodôntico N2[®] contendo formaldeído e eugenol provou ser o mais eficaz contra os microrganismos testados. As placas de controle positivo apresentaram crescimento bacteriano em todos os casos. Concluíram que os cimentos avaliados mostraram diferentes efeitos inibitórios dependendo dos tipos e cepas bacterianas. Sugeriram, portanto, que devem ser usados os cimentos endodônticos que têm biocompatibilidade, pelo menos aceitável.

Duarte et al. (2002) averiguaram a contaminação existente entre o MTA-Angelus[®] cinza e branco, sem estarem esterilizados, e o cimento de Portland[®], de uma embalagem recém-aberta e de um aberto há dois meses. Para o teste bacteriológico, as amostras dos cimentos testados foram inoculadas assepticamente em 3 mL de caldo BHI e foram mantidas na estufa a 37°C por 24 horas. Após a incubação, os tubos foram homogeneizados e as amostras foram plaqueadas nos seguintes meios: Ágar Mac Conkey – seletivo para bacilos (Gram-negativos); Ágar Manitol – para isolamento de *Staphylococcus*; Ágar sangue – meio rico para o isolamento de germes Gram-negativo e Gram-positivo; Ágar Celremide – seletivo para o isolamento de *Pseudoinottas* e Ágar M-*Enterococcus* – seletivo para o isolamento de *E. faecalis*. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas e analisadas para crescimento bacteriano. Para o teste micológico as amostras foram inoculadas assepticamente em 3 mL de caldo SDB acrescido de cloranfenicol e foram mantidas na estufa a 25°C por 72 horas. Após a incubação, os tubos foram homogeneizados e as amostras foram plaqueadas nos seguintes meios: Ágar SDB acrescido de cloranfenicol meio para o isolamento de bolores e leveduras; Ágar Batata-Dextrose – meio para o isolamento de bolores e leveduras e Ágar *Mycobiotic* – meio seletivo para o isolamento de bolores. As placas foram incubadas em estufa micológica a 25°C por 15 dias e analisadas para crescimento de bolores e fungos. Os resultados demonstraram ausência de crescimento para Bacilos G, *Staphylococcus*, Germes G+ e G-, *Pseudomonas*, *E. faecalis*, bolores e leveduras e bolores para todos os materiais testados. Concluíram que o MTA[®] e o cimento de Portland[®] de uma embalagem recém-aberta e de outro aberto há dois meses não apresentaram contaminação.

Pezelj-Ribaric et al. (2002) testaram a atividade antibacteriana e antifúngica do cimento endodôntico à base de Ca(OH)₂ Apexit[®]. Foram utilizadas duas técnicas diferentes em seus estudos, o teste de contato direto (DCT) para analisar o material logo após sua manipulação e um teste para avaliação da efetividade antimicrobiana dos materiais obturadores após cinco dias da manipulação (BST). Os microrganismos utilizados foram: *S. aureus*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas putida* e *C. albicans* que foram isolados e identificados usando o teste API-kits (Bio Mérieux[®]). As cepas foram inoculadas em 5 mL de BHI e incubadas sob rotação (37°C, um dia). As células foram colhidas por centrifugação

e ressuspendidas em mol 0,15 fresco/L-fosfato salina tamponada (PBS, pH 6,9). O teste de contato direto foi feito de acordo com Fuss, Weiss e Shalhav (1997). Resumidamente o cimento recentemente manipulado foi colocado na parede lateral de um conjunto de três poços para cada linhagem, em 96 placas de micro titulação com bactérias ou suspensão de levedura. Após incubação (37°C, 1 hora), assegurou-se o contato direto entre os microrganismos e o material testado. Poços sem revestimento serviram de controle positivo, enquanto poços revestidos (sem o inoculum bacteriano) serviram como controle negativo. O caldo de teste de sobrevivência modificação do BST, originalmente descrito por Waltimo et al. (1999) foi utilizado para examinar as características antimicrobianas do material envelhecido sendo o cimento manipulado fixado em 15 mL de PBS estéril em uma atmosfera úmida a 37°C por cinco dias. O sobrenadante (pH 9,7) foi utilizado como solução de ensaio, a fase apurada líquida (pH 12,4) de solução saturada de hidróxido aquoso foi utilizada como controle negativo, enquanto apenas PBS (pH 7,4) como controle positivo. Após 1, 6, 20 e 24 horas de incubação, 10 séries de diluições das suspensões tiradas de poços para DCT e de tubos de BST foram plaqueadas e colônias contadas após incubação (37°C, 1 dia). Todos os testes foram realizados em duplicata e repetidos três vezes. O Apexit[®] recentemente manipulado não mostrou importante atividade microbocida, não sendo capaz de eliminar todos os microrganismos examinados. Durante 6 horas de incubação, o seu efeito foi mais pronunciado contra bactérias Gram-negativas e não tanto contra bactérias gram-positivas *S. aureus*. Concluíram que não houve qualquer influência sobre o crescimento de *C. albicans*. Depois de um dia de contato com microrganismos selecionados, Apexit[®] apresentou uma atividade antifúngica fraca e um efeito bacteriostático moderado.

Várias pesquisas são observadas frente à seleção do material obturador e técnica obturadora ideal e, conforme descrito por Mickel, Nguyen e Chogle (2003), a união de diferentes propriedades, especialmente ação antimicrobiana e compatibilidade biológica em um mesmo material, ainda representa um ideal a ser buscado. Desta forma, os autores avaliaram a atividade antimicrobiana dos seguintes cimentos endodônticos: Sealapex[®], Roth 811[®], Kerr Pulp Canal Sealer EWT[®] e AH Plus[®] sobre amostras de *E. faecalis* utilizando o teste de difusão em Ágar. Dezesete placas de Ágar sangue foram inoculadas com *E. faecalis*, sendo

cada uma dividida igualmente em cinco seções. Discos de papel absorvente secos foram impregnados com cada um dos quatro cimentos e uniformemente distribuídos em cada placa. Um disco de amoxicilina serviu como controle positivo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por um período de 48 horas. Zonas de inibição foram medidas no período de 24 e 48 horas. Após incubação a 37°C, as zonas de inibição foram medidas nos tempos de 24 e 48 horas. A análise estatística demonstrou diferenças significantes entre todos os grupos dos cimentos endodônticos testados. Os resultados verificados foram que, Roth 811[®], Sealapex[®], Kerr EWT[®] mostraram evidência de zonas de inibição. Inversamente, AH-Plus[®] não demonstrou qualquer inibição antimicrobiana. Roth 811[®] mostrou as maiores zonas de inibição com a média de 1,1 mm, seguido pelo Sealapex[®], 0,8 mm, e Kerr EWT[®], 0,5 mm. O cimento AH-Plus[®] não apresentou zona de inibição. O controle positivo mostrou uma zona de inibição média de 10,0 mm. O resultado para o período de 48 horas, não foi diferente do período de 24 horas. Concluíram que o Roth 811[®] demonstrou o maior halo de inibição, seguido pelo Sealapex[®] e Kerr EWT[®], enquanto o cimento AH Plus[®] não apresentou atividade antimicrobiana. Não houve diferença no tamanho dos halos de inibição entre os períodos de 24 e 48 horas.

Com o propósito de avaliar a atividade antimicrobiana de vários cimentos endodônticos (RoekoSeal[®], Ketac-Endo[®], AH Plus[®], Sealapex[®] e Sultan[®]), Çobankara et al. (2004) utilizaram os DCT e de ADT frente à bactéria *E. faecalis*. Para DCT, os cimentos foram manipulados e colocados em poços na parede lateral da placa de microtitulação. Dez µL de suspensão bacteriana foram colocados nas amostras do material a ser testado. Foi permitido contato direto entre as bactérias e os cimentos por 1 hora a 37°C. O crescimento bacteriano foi, então, medido por um espectrofotômetro a cada 30 minutos durante 19 horas. Para o ADT, uma suspensão bacteriana de 200 µL foi espalhada em placas de Ágar com infusão BHI. Os cimentos recém-manipulados foram, então, colocados em poços perfurados uniformemente no Ágar. Após períodos de incubação a 37°C por 24 horas e sete dias, em ambiente úmido, as zonas de inibição do crescimento bacteriano foram observadas e medidas. Os resultados mostraram que os cimentos AH Plus[®], Ketac-Endo[®] e Sultan[®], nos testes de DCT foram semelhantes entre si, porém, apresentaram maior potencial de inibição bacteriana em relação ao RoekoSeal[®] e Sealapex[®]. No teste ADT, o cimento RoekoSeal[®] não apresentou atividade

antibacteriana. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os cimentos Sealapex[®], AH Plus[®] e Sultan[®]; sendo que o Ketac-Endo[®] demonstrou menor atividade antibacteriana do que estes três cimentos. Concluíram que a eficácia antibacteriana dos cimentos endodônticos variou de acordo com os testes utilizados. Acrescentaram que a técnica, tempo e composição dos materiais testados podem afetar os resultados de estudos microbiológicos. Assim, propuseram que mais de um método de estudo deve ser utilizado no processo de avaliação das propriedades antibacterianas de materiais odontológicos.

Por meio do método de contato direto e o teste de difusão em Ágar, Gomes et al. (2004a) analisaram as propriedades antimicrobianas de cinco cimentos endodônticos (EndoFill[®], Endomethasone[®], Endomethasone N[®], Sealer 26[®] e AH Plus[®]) em diferentes períodos pós-manipulação: imediatamente, após 24 horas, 48 horas e sete dias, frente aos seguintes microrganismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. sanguis* e *Actinomyces naeslundii*. Para se ter o mesmo volume de cimento, 0,2 mL, os mesmos foram preparados e introduzidos na altura dos furos padrão (5 X 4 mm) de um aparato de teflon estéril e, posteriormente, colocados em uma incubadora a 37°C até o início do experimento (exceto as utilizadas imediatamente após a manipulação). Dois métodos padronizados foram utilizados para investigar a atividade antimicrobiana dos cimentos: contato direto e de difusão em Ágar. Os resultados demonstraram que imediatamente após a manipulação, EndoFill[®], Endomethasone[®] e Endomethasone N[®] apresentaram maior atividade antimicrobiana, sem diferença estatística significativa entre si. Sealer 26[®] apresentou a menor atividade antimicrobiana. Nos demais tempos após manipulações, não houve diferença estatisticamente significativa entre os cimentos testados. Frente a todos os microrganismos utilizados, Endomethasone N[®] apresentou a maior atividade antimicrobiana contra *A. naeslundii* e EndoFill[®] contra *S. aureus*. EndoFill[®] e Endomethasone N[®] apresentaram o melhor desempenho em relação a *S. sanguis*. Endomethasone N[®] foi também o mais eficaz contra a *C. albicans*, embora seus resultados tenham sido quase idênticos aos obtidos com Endomethasone[®]. O microrganismo mais resistente contra todos os cimentos testados foi *E. faecalis*, sendo mais afetado pelo Endomethasone[®]. Os microrganismos mais suscetíveis a todos os cimentos testados foram *S. sanguis* e *S. aureus*. Concluíram que nenhum dos cimentos inibiu completamente o crescimento dos microrganismos testados. A

atividade antimicrobiana de cada cimento diminuiu com o tempo. Em ambas as metodologias, todos os cimentos testados demonstraram um maior valor antimicrobiano nas primeiras 24 horas após manipulação.

Saleh et al. (2004) investigaram a capacidade de diferentes cimentos endodônticos e do $\text{Ca}(\text{OH}_2)$ em destruir bactérias presentes em túbulos dentinários infectados, de raízes de dentes humanos extraídos. Após instrumentação e irrigação com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% e hipoclorito de sódio (NaClO) a 5%, por 4 minutos, cada um dos 56 espécimes foram infectados com *E. faecalis* por três semanas. As raízes foram divididas em oito grupos e obturadas com gutapercha e os seguintes cimentos: AH Plus[®] (AH), cimento de Gossman[®] (GS), Ketac-Endo[®] (KE), Apexit[®] (AP), RoekoSeal Automix[®] (RSA), RoekoSeal Automix[®] com um primer experimental (RP), $\text{Ca}(\text{OH}_2)$ (CH) e um grupo controle (CT), sem obturação. Após armazenamento em condições de umidade a 37°C por sete dias, os canais radiculares foram abertos com broca Largo[®] e amostras de dentina de cada canal foram coletadas por meio de um alargador. O número de UFC foi determinado procedendo a contagem do número de colônias bacterianas para cada amostra. Os resultados revelaram que bactérias foram encontradas em todas as amostras do CT. A média \log_{10} CFU em todos os grupos teste foi significativamente menor do que no grupo CT. Nos túbulos dentinários das raízes obturadas com AH e GS não ocorreu desenvolvimento de bactérias (UFC média = 0) após sete dias. A média \log_{10} CFU para o grupo CH (0,53) foi menor do que o RSA, AP, RP e KE (1,36, 1,40, 1,46 e 1,94, respectivamente), mas apenas a diferença entre o CH e o grupo KE foi estatisticamente significativa. A média \log_{10} CFU para o grupo KE foi significativamente maior do que para o AH e GS. Concluíram que o uso do AH Plus[®] e cimento de Gossman[®] em obturações, *in vitro*, foi eficaz em eliminar o *E. faecalis* presentes em túbulos dentinários infectados experimentalmente dentro da zona de 300 μm em torno do canal radicular. Os outros cimentos endodônticos, bem como o $\text{Ca}(\text{OH}_2)$, diminuíram o número, mas não eliminaram efetivamente as bactérias em túbulos dentinários infectados.

Sandini et al. (2004) pesquisaram a capacidade antimicrobiana, *in vitro*, de alguns cimentos obturadores à base de OZE sobre *E. faecalis*, empregando o método de difusão em Ágar. Os cimentos obturadores testados foram: OZE, Endomethasone[®] e Endofill[®]. Foram preparadas três placas de Petri para cada

período experimental após a manipulação: imediato, 24 horas, 48 horas e sete dias. *E. faecalis* foi semeado nas placas contendo meio de cultura e em cada placa foram colocados, respectivamente, os três tipos de cimentos obturadores. Após incubação a 37°C por 48 horas, foram medidos halos de inibição de crescimento bacteriano, com o auxílio de um paquímetro digital. Constataram que os cimentos testados apresentaram atividade antimicrobiana em todos os tempos do experimento, sendo que o cimento de OZE revelou um halo de inibição superior aos demais cimentos obturadores.

Al-Hezaimi et al. (2005) avaliaram, *in vitro*, a ação antifúngica de diferentes concentrações do MTA[®] branco contra a *C. albicans*. Mistura de MTA[®] com Ágar foi preparado em concentrações variando entre 0,78 mg/mL a 50 mg/mL por diluição com 10 mL de Ágar fundido a 45°C. A mistura uniforme do composto MTA[®]/Ágar foi, então, colocada em placas de Petri estéreis. Um total de 348 placas Ágar foi preparada e dividida em grupos experimentais e controles com 11 e cinco placas cada e grupo, respectivamente. Placas de Ágar sem MTA[®] serviram como controle positivo e placas sem o microrganismo serviram como controle negativo. Todas as placas foram incubadas a 37°C por períodos de uma, 24, 48 e 72 horas. Em cada período de tempo, a presença de colônias de *C. albicans* foi avaliada e registrada. Relataram haver uma correlação direta entre a concentração de MTA[®] e seu efeito inibitório sobre o crescimento do fungo. Concluíram que o MTA[®] de cor branca, na concentração de 50 mg/mL, foi eficaz para eliminar a *C. albicans* para os períodos de até três dias.

Araújo (2005) averiguou, *in vitro*, a aderência de *E. faecalis* na superfície de alguns cimentos de obturação utilizados em Endodontia. Foram confeccionados 10 corpos de prova de cinco tipos de cimentos endodônticos (Sealer 26[®], N-Rickert[®], Sealapex[®], Pulp Canal Sealer[®] e AH Plus[®]), nos quais foi observada a aderência de *E. faecalis* em suas superfícies. Cada corpo de prova foi colocado em imersão em cultura do microrganismo, durante 24 horas, e a seguir, foram quantificadas médias das UFC de microrganismos aderidos aos corpos de prova de cada material obturador. Os resultados revelaram que ao se comparar as médias de aderência de *E. faecalis* na superfície destes cimentos observou-se que: o cimento Pulp Canal Sealer[®] foi o que menos aderiu bactérias em sua superfície, seguido do cimento N-Rickert[®], AH Plus[®], Sealapex[®] e Sealer 26[®]. O grupo do cimento Sealer 26[®] e AH

Plus[®] foi estatisticamente diferente dos seus respectivos grupos controle. Entre os demais grupos, não houve diferença estatisticamente significativa na aderência de *E. faecalis*. Concluiu-se que o Sealer 26[®] foi o cimento que mais aderiu este microrganismo na sua superfície, seguido pelo Sealapex[®], AH Plus[®], N-Riquert[®] e Pulp Canal Sealer[®].

Kayaoglu et al. (2005) investigaram a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos MCS Canal Sealer[®], AH Plus[®], Cimento Grossman[®], Sealapex[®] e Apexit[®] frente ao *E. faecalis* permitindo ou evitando o contato direto entre os cimentos e as bactérias através de uma membrana-filtro. Discos de filtro de papel foram imersos em suspensões padronizadas de *E. faecalis* e expostos em poços de teflon contendo os cimentos recém manipulados, durante 30 minutos. Logo após, estes discos foram transferidos para frascos contendo solução PBS e vigorosamente agitados. Este meio, com suspensão de células bacterianas, foi diluído e semeado em placas para teste de sensibilidade aos antibióticos (TSA), sendo estas incubadas a 37°C por 24 horas. As CFU foram contadas. Seus resultados indicaram que no teste de contato direto os cimentos MCS Canal Sealer[®] e AH Plus[®] eliminaram as bactérias a um nível abaixo do limite de detecção, seguidos em ordem decrescente de eficácia pelo Cimento Grossman[®], Sealapex[®] e Apexit[®]. Com a membrana-filtro restringindo o teste de contato, os cimentos foram em ordem decrescente de potência antimicrobiana: MCS Canal Sealer[®], AH Plus[®], Cimento Grossman[®], Apexit[®] e Sealapex[®]. Os cimentos endodônticos MCS Canal Sealer[®], AH Plus[®] e Grossman[®] reduziram significativamente o número de bactérias viáveis em ambos os testes. Sealapex[®] e Apexit[®] não foram estatisticamente diferentes do grupo controle (disco de teflon). Concluíram que os cimentos MCS[®], AH Plus[®] e Grossman[®] foram eficazes na redução da CFU de *E. faecalis*, quer no contato direto ou quando restringido por uma membrana-filtro.

Buscando avaliar a possibilidade de sobrevivência de microrganismos após a obturação do canal radicular Sedgley, Lennan e Appelbe (2005) realizaram estudo, *ex vivo*, para determinar a capacidade de sobrevivência do *E. faecalis* após a obturação definitiva do canal sem aporte nutricional adicional. Cento e cinquenta dentes monorradiculares foram divididos em seis grupos de 25. Dentro de cada grupo, 10 canais foram inoculados com cepas isogênicas de *E. faecalis* OG1-S produtoras de gelatinase e resistentes a eritromicina e os outros 10 com OG1-X,

uma cepa mutante com capacidade reduzida de produção de gelatinase. Cinco canais de cada grupo de dentes, sem inoculação, foram utilizados como grupo controle. Os canais radiculares nos grupos 1 e 2, inoculados com 10^6 e incubados por 48 horas a 37°C foram em seguida, obturados com guta-percha e cimento OZE (Roth-801). Os canais radiculares dos grupos 3-6 foram inoculados com 10^6 , 10^5 , 10^4 e 10^3 , respectivamente. Todos os dentes foram selados com cimento de ionômero de vidro. Após seis meses (grupos 1, 3-6) e 12 meses (grupo 2) de incubação a 37°C em 100% de umidade, fragmentos de raízes foram analisadas para a presença de *E. faecalis*, utilizando métodos de cultura, reação em cadeia da polimerase e histológico. Os resultados revelaram que, após os períodos de incubação, ainda foi possível isolar células viáveis de todos os dentes obturados. Considerando a quantidade de células viáveis, não houve diferença estatística entre o grupo colonizado por *E. faecalis* OG1-S e aquele colonizado por *E. faecalis* OG1-X. Estes resultados demonstraram a ampla capacidade deste microrganismo em sobreviver a grandes desafios ambientais e de permanecer por um longo período viável no interior de canais radiculares obturados, levando a uma possível subsequente reinfecção do sistema de canais radiculares, o que pode comprometer o tratamento.

Sipert et al. (2005) avaliaram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos FillCanal[®], Sealapex[®], MTA[®], cimento Portland[®] e EndoRez[®] frente aos microrganismos *E. faecalis*, *E. coli*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*. O cimento FillCanal[®] foi utilizado para um controle positivo de inibição. O estudo foi realizado em placas com duas camadas, em que a camada de base foi feita de 10,0 mL de Ágar MH derramado em 20 X 100 mm em placas de Petri esterilizadas. Cinco poços (um para cada material) foram feitos por remoção de ágar em pontos equidistantes e, em seguida, preenchidos pelos cimentos, após manipulação. Todas as cepas microbianas foram cultivadas a 37°C por 24 horas em meio MH e, em seguida semeadas em 15,0 mL de ágar MH, para produzir uma turbidez de 0,5 na escala de Mc Farland, o que corresponde a uma concentração de 10^8 UFC/mL⁻¹. Vinte e duas placas foram utilizadas, e cada microrganismo foi testado em triplicata e uma placa foi usada sem receber a semeadura. Este meio foi utilizado como a segunda camada. O Ágar semeado foi adicionado sobre as placas imediatamente após a inserção dos cimentos. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 2 horas para pré-difusão dos materiais e em seguida,

incubados a 37°C por 24 horas. O mesmo procedimento foi realizado em uma placa sem a adição de semente bacteriana. Alíquotas de 10 mL de 0,05% gel trifeniltetrazólio a 0,05% foram adicionados para otimização do meio e as placas foram incubadas novamente a 37°C por 30 minutos de acordo com procedimentos previamente relatados por Leonardo et al. (2000). Este procedimento é útil para diferenciar áreas de crescimento microbiano (áreas vermelhas) nas zonas de difusão. As zonas de inibição ao redor dos poços foram medidas com uma régua milimetrada com precisão de 0,5mm. Os resultados revelaram que FillCanal[®], Sealapex[®], MTA[®] e cimento Portland[®] mostraram evidências de inibição. Por outro lado, EndoRez[®] não demonstrou qualquer atividade antimicrobiana. A cepa de *E. coli* não foi inibida pelo MTA[®] e cimento Portland[®] enquanto FillCanal[®] e Sealapex[®] inibiram o crescimento de todas as cepas testadas. Concluíram que os cimentos FillCanal[®], Sealapex[®], MTA[®] e Portland[®] apresentaram atividade antimicrobiana não sendo a mesma verificada para o EndoRez[®].

Tabrizzadeh e Mohammadi (2005) compararam o efeito antimicrobiano do AH-26[®], Dorifill[®] e OZE puro frente aos microrganismos *S. aureus* e *S. mutans*. Após incubação a 37°C por 24 horas e sete dias em atmosfera úmida, o efeito antimicrobiano de cada cimento foi determinado com medições do diâmetro da zona de inibição. Os resultados indicaram que nas amostras de 24 horas, a atividade antibacteriana do AH-26[®] foi significativamente superior aos outros dois materiais testados frente às bactérias. Dorifill[®] e OZE puro não apresentaram diferenças significativas entre si sobre o *S. aureus*, porém para o *S. mutans*, Dorifill[®] apresentou um efeito significativamente maior do OZE puro. Nas amostras de sete dias, diferenças estatisticamente significativa foram observadas para ambas as espécies bacterianas testadas. A atividade antibacteriana foi observada em ordem decrescente: OZE puro, AH-26[®] e Dorifill[®]. Concluíram que as substâncias estudadas apresentaram propriedades antibacterianas variadas. Em 24 horas, o AH-26[®] exerceu a maior atividade contra ambos os organismos testados. Por sete dias, Dorifill[®] apresentou menor atividade antibacteriana que AH-26[®] e OZE puro.

Al-Hezaimi et al. (2006) avaliaram, *in vitro*, os efeitos antibacterianos do MTA[®] de cor cinza (GMTA) e de cor branca (WMTA) contra o *E. faecalis* e *S. sanguis* utilizando o tubo de ensaio de diluição. Tubos Broth foram preparados nas seguintes concentrações: 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,12 mg/mL sendo, logo após,

divididos em grupos experimentais e controle. Alíquotas de cada um dos microrganismos testados foram adicionadas a cada grupo experimental e controle positivo. Todos os grupos foram incubados a 37°C e avaliados quanto à turbidez nos períodos de 0, 1, 24, 48 e 72 horas. Uma correlação direta foi encontrada entre concentrações de GMTA e WMTA e seus efeitos antibacterianos. Tubos contendo GMTA nas concentrações de 50, 25 e 12,5 mg/mL não mostraram crescimento do *E. faecalis*, em qualquer um dos períodos de tempo testados. Entretanto, tubos contendo WMTA mostraram crescimento de *E. faecalis* em todas as concentrações e períodos testados. Tubos contendo GMTA em todas as concentrações e tubos contendo WMTA nas concentrações de 50, 25 e 12,5 mg/mL não mostram crescimento do *S. sanguis*, em qualquer um dos períodos de tempo testados. Concluíram que a susceptibilidade das bactérias testadas para MTA[®] é diferente, sendo que o GMTA requer concentrações menores do que WMTA para exercer o mesmo efeito antibacteriano contra cada um dos microrganismos testados.

Utilizando o teste de difusão em Ágar, Bodrumlu e Semiz (2006) pesquisaram os efeitos antimicrobianos um novo cimento endodôntico (Epiphany[®]) e cinco outros cimentos endodônticos (Diaket[®], Endomethasone[®], AH 26[®], Sealapex[®], Sultan[®]). Alíquotas da suspensão de *E. faecalis* foram espalhadas em quatro placas de Petri com contendo Ágar MH. Cada placa foi dividida igualmente em seis seções. Em cada seção de cada placa, um poço de 5 mm de diâmetro foi criado com um cilindro de aço inoxidável estéril. Amostras dos cimentos recém-manipulados foram colocadas nos poços em cada seção das quatro placas. Todas as placas foram incubadas por 72 horas a 37°C, em condições aeróbias, e as zonas de inibição de crescimento foram medidas em 24, 48 e 72 horas. Os resultados nos tempos de 48 e 72 horas mostraram que a efetividade dos cimentos endodônticos diminuiu, ligeiramente, com o tempo. Todos os cimentos endodônticos provocaram zonas de inibição do crescimento bacteriano. No entanto, Epiphany[®] e o AH 26[®] apresentaram pouco efeito sobre o microrganismo testado. Endomethasone[®] e Sultan[®] exibiram as maiores zonas de inibição (diâmetro médio com 33 mm). Diaket[®] e Sealapex[®] mostraram ligeira atividade antimicrobiana contra e foram mais efetivos do que o Epiphany[®] e AH 26[®]. A eficácia dos cimentos, em ordem decrescente de atividade antimicrobiana, foi: Endomethasone[®], Sultan[®], Sealapex[®],

Diaket[®], Epiphany[®] e AH 26[®]. Concluíram que o cimento endodôntico Epiphany[®] não ofereceu vantagem antibacteriana sobre os demais cimentos testados.

Eldeniz et al. (2006) avaliaram e compararam, *in vitro*, a atividade antibacteriana de um novo cimento endodôntico à base de resina, EndoREZ[®], com cinco outros cimentos: AH 26[®], Diaket[®], Sultan[®], Apexit[®] e RoekoSeal[®]. O efeito dos seis diferentes cimentos sobre o crescimento de três bactérias (*E. faecalis*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*) foi medido utilizando o teste ADT e o teste DCT. Para ADT, 200 µL de suspensões bacterianas foram espalhadas em placas de Ágar e os cimentos recém-manipulados foram aplicados em poços perfurados no Ágar. As zonas de inibição do crescimento bacteriano foram medidas em 24-48 horas, sete e 10 dias. Para DCT, dois conjuntos de cimentos foram preparados: recém-manipulados e amostras de 24 horas, sendo estas incubadas em uma atmosfera úmida a 37°C por 24 horas antes do teste. Os cimentos foram manipulados e colocados nas paredes de poços de microplacas e 10 µL de suspensões bacterianas foram inseridas diretamente aos mesmos por 1 hora. Meios úmidos foram adicionados e 15 µL foram transferidos a partir desta placa para outra placa contendo meio úmido (215 µL). O crescimento bacteriano desta última placa foi então medido, utilizando espectrofotômetro a cada hora, durante 16 horas. Os resultados indicaram que no ADT os cimentos EndoREZ[®], Apexit[®] e RoekoSeal[®] não mostraram atividade antibacteriana. No DCT, AH 26[®] e Sultan[®] foram potentes inibidores do crescimento bacteriano. Concluíram que o cimento EndoREZ[®] não foi um potente inibidor do crescimento bacteriano como Sultan[®] e AH 26[®].

Hoelscher, Bahcall e Maki (2006) avaliaram o efeito antimicrobiano dos seguintes antibióticos: amoxicilina, penicilina, clindamicina, metronidazol, e doxiciclina, quando adicionados, separadamente, ao cimento endodôntico Pulp Canal Sealer EWT[®] contra *E. faecalis*. Trinta placas de Ágar, contendo BHI, foram inoculadas, aleatoriamente, com *E. faecalis* e discos de papeis estéreis contendo a mistura de antibiótico e cimento. O cimento endodôntico sobre um disco de papel estéril e um disco de papel estéril sem cimento foram usado como controle. Quinze placas foram incubadas em ambiente aeróbico e as outras 15 restantes em ambiente anaeróbico a 37°C. As zonas de inibição foram medidas após 48 horas. Os resultados revelaram que a combinação cimento e antibióticos amoxicilina, penicilina, clindamicina, doxiciclina apresentaram diferenças significativas na média

das zonas de inibição, quando comparado ao cimento Kerr Sealer EWT[®] sem os antibióticos. Porém, diferenças significativas não foram encontradas entre os grupos em ambiente aeróbico ou anaeróbico e entre a combinação metronidazol-cimento e Kerr Sealer EWT[®] somente. Concluíram que certos antibióticos, quando adicionado a este cimento, aumentaram a sua atividade antimicrobiana contra o microrganismo testado. Pesquisas futuras devem examinar como a adição de antibióticos podem afetar as propriedades de selamento, difusibilidade e substantividade dos cimentos endodônticos.

No estudo de Miyagak et al. (2006) foi avaliada a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos: N-Rickert[®], Sealapex[®], AH Plus[®], MTA[®] e Portland[®]. Para tal, foi utilizado o teste de difusão em Ágar em placas previamente inoculadas com os seguintes microrganismos: *C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*. Quatro placas de Petri previamente esterilizadas foram preparadas contendo Ágar BHI com volume necessário para obter 5 mm de espessura. Em cada placa, cinco perfurações com 4 mm de diâmetro foram feitas para receber os materiais de ensaio. Cada microrganismo foi espalhado sobre as placas com um cotonete. Os cimentos em estudo foram colocados nos poços logo após a manipulação. Os diâmetros das zonas de inibição microbiana, formado ao redor dos poços, contendo os cimentos, foram medidos após 24 horas de incubação em estufa a 37°C. Os resultados da análise estatística revelaram diferenças significativas (5%) quando comparados AH-Plus[®] com MTA[®], Portland[®] e Sealapex[®]. Nenhuma diferença foi encontrada quando se comparou AH-Plus[®] com N-Rickert[®]. Ao comparar N-Rickert[®] com MTA[®], Portland[®] e Sealapex[®], a diferença média foi significativa (1 %). Concluíram que apenas os cimentos AH Plus[®] e N-Rickert[®] apresentaram atividade antimicrobiana contra *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*. Nenhuma atividade antimicrobiana foi observada para o Sealapex[®], MTA[®] e Portland[®]. O cimento N-Rickert[®] apresentou as maiores zonas inibição variando de 8 a 18 mm. Quanto aos microrganismos *E. faecalis*, este foi resistente contra todos os cimentos testados.

Mohammadi, Modaresi e Yazdizadeh (2006) avaliaram in vitro os efeitos antifúngicos do MTA[®] branco e cinza. Os materiais foram testados de duas maneiras: recém-manipulados (frescos) e após 24 horas de presa. O experimento foi realizado em 24 placas de cultura. Cinquenta cavidades foram utilizadas e divididas em quatro grupos experimentais de 10 poços cada um (misturas recentes e após 24

horas de MTA[®] branco e cinza) e grupos de controle de cinco poços de cada um. Placas de Ágar SDB dextrose misturadas com *C. albicans* serviu como controle positivo, e sem o microrganismo serviram como controle negativo. Durante a incubação de 1, 24 e 72 horas, alíquotas de 0,1 mL eram retiradas e semeadas em SDB, sendo monitoradas e quantificadas por mais sete dias. O crescimento dos fungos foi monitorado diariamente pela presença de turbidez. Os resultados demonstraram que, para todos os períodos experimentais, nos controles negativos nenhum crescimento fúngico foi observado. Para o controle positivo, o crescimento estava presente. Quando foi aumentado o tempo de incubação, nenhum crescimento fúngico foi observado. Concluíram que os cimentos MTA[®] (recém-manipulados e após 24 horas) foram eficazes contra a *C. albicans*.

Utilizando o teste de contato direto, Pizzo et al. (2006) avaliaram a atividade antibacteriana dos seguintes cimentos endodônticos: AH Plus[®], Endomethasone[®], Pulp Canal Sealer[®] e Vcanalare[®] frente ao *E. faecalis*. Para o teste DCT, uma placa de microtitulação com 96 poços foi mantida verticalmente e quatro poços foram cobertos com cimento recém-manipulado (Grupo A). 10 µL do inóculo bacteriano foram colocados no material de ensaio, 20 minutos, 24 horas e sete dias após a manipulação, cada um em uma placa diferente. As placas foram incubadas em atmosfera úmida a 37°C por uma hora. 250 µL de meio BHI foram adicionados a cada poço e delicadamente misturados por 2 minutos; 50 µL de inóculo bacteriano foi, então, transferidos dos poços do grupo A, respectivamente, para um conjunto de quatro poços adjacentes contendo 200 µL de meio úmido (Grupo B). Isso resultou em dois conjuntos de quatro poços para cada cimento testado. Assim, o crescimento bacteriano foi monitorado tanto na presença e na ausência do material testado. Dois conjuntos de poços revestidos (Grupos A e grupo B), inoculados com volumes idênticos de suspensão bacteriana, serviram como controle positivo. O controle negativo consistiu em dois grupos de poços contendo inoculado fresco úmido (250 µL), um dos quais foi revestido com os materiais testados. As placas foram incubadas a 37°C em câmara úmida. O crescimento bacteriano foi medido em um espectrofotômetro a cada 30 minutos por 7 horas, e novamente após 24 horas de incubação. Os resultados revelaram que no Grupo A, onde as bactérias cresceram na presença dos materiais testados recém-manipulados e após 24 horas, amostras dos quatro cimentos mostraram inibição

completa do crescimento bacteriano. Nas amostras de dias, só Vcanalare[®] foi completamente inibitório, enquanto que AH Plus[®], Endomethasone[®] e Pulp Canal Sealer[®] foram similares ao controle positivo. No Grupo B, onde as bactérias foram incubadas na ausência dos materiais testados, os resultados não diferiram para amostras recém-manipuladas. Para amostras de 24 horas, Endomethasone[®], Pulp Canal Sealer[®] e Vcanalare[®] apresentaram inibição completa para todos os períodos de incubação, enquanto que AH Plus[®], inibindo o crescimento de bactérias até a leitura de 7 horas, não foi capaz de eliminar todas as bactérias que poderiam chegar à fase estacionária de crescimento após 24 horas de incubação. Concluíram que a atividade antimicrobiana dos cimentos testados depende do intervalo de tempo entre a manipulação e os testes. Todos os cimentos apresentaram efeito bactericida, quando recém-manipulados, mas só Vcanalare[®] prorrogou esse efeito até sete dias após a manipulação.

No estudo de Ribeiro et al. (2006) foi avaliado e comparado o efeito antimicrobiano do MTA Dentsply[®], MTA Angelus[®], Ca(OH)₂ e cimento Portland[®]. Quatro cepas foram utilizadas: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Bacteroides fragilis* e *E. faecalis*. Placas contendo Ágar MH suplementada com 5% de sangue de ovinos, hemina e menadiona foram inoculadas com as suspensões bacterianas. Posteriormente, poços foram preparados e imediatamente preenchidos com materiais e incubados a 37°C por 48 horas em atmosfera de anaerobiose, exceto para *P. aeruginosa*. Para avaliar o efeito da atmosfera aeróbica na atividade antimicrobiana das formulações do MTA[®] e do Ca(OH)₂, os microrganismos facultativos *E. coli* e *E. faecalis* foram também incubados aerobiamente a 37°C por 24 horas. O controle negativo consistiu de poços preenchidos com Ágar MH. A seguir, os diâmetros zonas de inibição foram então medidos. Os resultados revelaram que formulações do MTA Dentsply[®], MTA Angelus[®], cimento Portland[®] e Ca(OH)₂ demonstrou ação inibitória para *P. aeruginosa*. No entanto, as formulações do MTA[®] e cimento Portland[®] não foram capazes de inibir a *E. coli*, *E. faecalis* e *B. fragilis*. O Ca(OH)₂ também mostrou atividade inibitória, com zonas de maior inibição contra *P. aeruginosa* e *B. fragilis*. Em ambiente aeróbico conferiram ao *E. faecalis* sensibilidade as formulações tanto do MTA[®] e Ca(OH)₂. As cepas de *E. coli* foram apenas sensíveis ao Ca(OH)₂. Concluíram que o MTA Dentsply[®], MTA Angelus[®] e cimento Portland[®] mostraram semelhantes propriedades antimicrobianas contra *P.*

aeruginosa. A pasta de Ca(OH)_2 mostrou uma atividade antimicrobiana superior ao MTA Dentsply[®], MTA Angelus[®] e cimento Portland[®]. O ambiente aeróbico interferiu com a atividade antimicrobiana de formulações do MTA[®] e do Ca(OH)_2 contra *E. faecalis* e do Ca(OH)_2 contra *E. coli*.

Savioli et al. (2006) estudaram a atividade antimicrobiana do cimento de Grossman[®] e de seus componentes sobre 13 diferentes cepas de *S. Mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *E. faecalis*, *M. luteus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* pelo método de difusão de poço em camada dupla. As culturas foram incubadas por 24 horas a 37°C em meio MH ou meio BHI, de acordo com as características fisiológicas de cada organismo. A manipulação do cimento seguiu as recomendações do fabricante, e cada um dos seus componentes foi testado individualmente. As amostras foram colocadas em placas de Petri com os diferentes microrganismos e mantidas em temperatura ambiente por duas horas, para permitir a pré-difusão do material e, em seguida, incubados a 37°C por 24 horas. A área de inibição formada foi, então, medida no ponto de maior largura utilizando uma régua milimétrica. Os resultados revelaram que o cimento de Grossman[®] apresentou atividade antimicrobiana contra todas as cepas utilizadas. Dos componentes do cimento, o tetraborato de sódio foi o que apresentou maior atividade antimicrobiana, tanto por tipo como por tamanho do halo e aro de inibição. O pó do cimento, o breu e o eugenol apresentaram atividades semelhantes, sendo que estes não tiveram ação sobre *P. aeruginosa* e *C. albicans* e, dos três componentes, somente o eugenol teve ação sobre *E. coli*. O óxido de zinco somente teve ação sobre *Streptococcus sobrinus* e *E. coli*. O sulfato de bário e o subcarbonato de bismuto não tiveram nenhuma ação antimicrobiana.

Yücel et al. (2006) utilizando quatro cimentos endodônticos, AH Plus[®], AH 26[®], Sealapex[®] e Ketac-Endo[®], compararam a penetração bacteriana após obturação pela técnica da condensação lateral. Foram utilizados 100 dentes, divididos em quatro grupos experimentais e dois grupos controles, um negativo e um positivo. As amostras foram divididas aleatoriamente em cinco grupos de 20 dentes cada e obturados com os seguintes cimentos endodônticos: AH 26[®] (A), AH Plus[®] (AP), Sealapex[®] (S), Ketac-Endo[®] (K). A observação foi feita durante 60 dias, com uma avaliação em 30 dias e outra em 60 dias. Na primeira avaliação, os resultados mostraram que a infiltração bacteriana foi de 85% para os grupos AP e K e que o

grupo S apresentou 80% e, o grupo A, 75% de infiltração. Na avaliação com 60 dias, os resultados mostraram que a infiltração bacteriana foi de 100% para os grupos obturados com o cimento AH Plus[®], Ketac-Endo[®] e Sealapex[®], enquanto o AH 26[®] apresentou 95% de infiltração. Concluíram que não houve diferença na penetração de bactérias frente para os quatro cimentos endodônticos testados em 30 e 60 dias, sendo que nenhum cimento foi capaz de impedir a infiltração bacteriana.

Mohammadi e Yazdizadeh (2007) compararam o efeito antimicrobiano do AH-26[®], RealSeal[®] e GuttaFlow[®] nos tempos de 24 horas e uma semana frente ao *S. aureus* e *S. mutans*. Todos os cimentos foram preparados de acordo com os fabricantes. O efeito antimicrobiano de cada cimento foi determinado com medições do diâmetro da zona de inibição, em milímetros, após incubação a 37°C por 24 horas e durante sete dias em atmosfera úmida. Cada teste foi repetido três vezes. Os resultados revelaram que nas amostras com 24 horas, bem como nas amostras de sete dias, a atividade antibacteriana do AH-26[®] foi significativamente superior aos outros dois outros materiais testados contra as duas bactérias. A atividade antibacteriana dos RealSeal[®] e GuttaFlow[®] contra o *S. aureus* não foram significativamente diferentes entre si em 24 horas, bem como nas amostras de sete dias, mas RealSeal[®] apresentou significativamente maior efeito do que GuttaFlow[®] contra *S. mutans*. Concluíram que os cimentos testados apresentaram propriedades antibacterianas variadas. Em 24 horas, bem como em sete dias, o AH-26[®] exerceu a maior atividade contra ambos os organismos testados.

Sedgley (2007) testou, *in vitro*, a hipótese que em longo prazo a sobrevivência de *E. faecalis* em canais radiculares obturados é dependente do tipo de cimento endodôntico. Além disso, avaliou se a capacidade de produção de gelatinase poderia fornecer uma vantagem ecológica no ambiente pobre em nutrientes dos canais radiculares obturados. Cepas isogênicas de *E. faecalis*, diferentes nas suas capacidades de produção de gelatinase, foram utilizados nos experimentos. Noventa e cinco canais radiculares de caninos humanos extraídos foram inoculados, de modo idêntico, com *E. faecalis* ou com *E. faecalis* gelatinase-mutante negativo. Após 48 horas de incubação a 37°C, os canais foram obturados com guta-percha e com os seguintes cimentos endodônticos: AH Plus[®], RoekoSeal[®] ou Roth's 801[®]. Após oito meses de incubação a 37°C, os resultados demonstraram que cepas de *E. faecalis* viáveis foram recuperadas a partir de mais dentes

obturados com RoekoSeal[®] (95%) em comparação com AH Plus[®] (40%) e Roth's 801[®] (45%). Verificaram, também, que o grupos do cimento RoekoSeal[®] apresentou diferenças na contagem de cepas viáveis de *E. coli* sugerindo que a atividade da gelatinase desempenha um papel em longo prazo de sobrevivência do microrganismo testado, em canais radiculares obturados.

Tanomaru Filho et al. (2007) avaliaram a atividade antimicrobiana de diferentes cimentos endodônticos (Sealer 26[®], Sealapex[®] com óxido de zinco, OZE, cimento Portland[®], MTA-Angelus[®] e ProRoot[®]) imediatamente após sua manipulação. Foram utilizadas seis linhagens de bactérias: *M. luteus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *E. faecalis*. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método da difusão em Ágar com o meio de cultura MH. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por duas horas para difusão e, em seguida, incubadas a 37°C por 24 horas. O meio de cultura foi otimizado com 5 mL de gel de TCC (1% de Ágar e 0,05% de cloreto de trifeniltetrazolium) e, posteriormente, o halo de inibição foi medido. A Análise da eficácia dos materiais contra as cepas microbianas mostrou que Sealapex[®] com óxido de zinco, OZE e Sealer 26[®] apresentou halos inibição maior do que os cimentos à base de MTA[®] e cimento Portland[®]. Concluíram que todos os cimentos endodônticos possuíram atividade antimicrobiana.

Utilizando o teste de difusão em Ágar, Asgary e Kamrani (2008) pesquisaram os efeitos antibacterianos do MTA[®] cinza (GMTA) e branco (WMTA), Ca(OH)₂ (CH), cimento Portland[®] (PC) e um novo cimento endodôntico (NEC), constituído por diferentes compostos de cálcio, sobre várias espécies de microrganismos. Um total de 42 placas de Ágar MH foi dividida, aleatoriamente, em cinco grupos testes, com oito placas de cada um. Grupo 1, CH; grupo 2, GMTA; grupo 3, WMTA; grupo 4, PC e grupo 5, NEC. Cinco cavidades uniformes com 4 mm de diâmetro, uma para cada material testado, foram feitas nas placas sendo estas preenchidas com os cimentos recém-manipulados, após 24 horas. *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* e uma mistura dessas bactérias foram semeadas em cada placa e, logo após, pré-incubadas por 2 horas em temperatura ambiente seguida de incubação a 37°C. Controles positivos e negativos foram preparados, mantendo-se as placas com e sem inóculo, para o mesmo período e sob idênticas condições de incubação. Os diâmetros das zonas de inibição foram medidos com régua

milimetrada nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Os resultados revelaram crescimento bacteriano no controle positivo, enquanto no controle negativo o mesmo não ocorreu. Todas as cepas bacterianas foram inibidas por todos os materiais de ensaio. Os resultados de 24, 48 e 72 horas de incubação revelaram que o efeito antimicrobiano do CH e NEC em todos os microrganismos testados foi superior ao do MTA[®] e PC. Os resultados para 48 e 72 horas foram semelhantes aos de 24 horas. A maior média dos diâmetros das zonas de inibição do crescimento bacteriano foi verificada nos grupos NEC e CH. Não foi estatisticamente significativa a diferença da atividade antibacteriana entre CH e NEC e MTA[®] e PC. No entanto, CH e NEC apresentaram significativamente melhor efeito antibacteriano do que MTA[®] e PC. Não houve diferenças significativas entre os resultados do grupo da mistura e de outros grupos. Além disso, não houve diferenças significativas entre os resultados de 24, 48 e 72 horas para cada grupo, no entanto, diminuiu na ordem dos 24, 48 e 72 horas conforme o esperado. A zona de maior inibição, em ordem decrescente, em todos os grupos foi contra *E. faecalis*, seguido pela mistura de bactérias, *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Concluíram que os resultados favoráveis do NEC e CH, em comparação com WMTA, GMTA, e PC, indicam a potencialidade do NEC como um agente antibacteriano. No entanto, são necessárias novas pesquisas sobre as propriedades deste novo material.

Kishen et al. (2008) realizaram um estudo com o propósito de investigar a eficácia antibacteriana e antibiofilme de nanopartículas catiônicas de óxido de zinco (ZnO-NP), de quitosana (CS-NP), uma mistura de óxido de zinco e quitosana (CS/ZnO-NP) e óxido de zinco com multicamadas de revestimento de quitosana (CS-layer-ZnO-NP) na desinfecção de canais radiculares. As propriedades de nanopartículas misturadas a um cimento à base de OZE (Grossman 801[®]) frente ao *E. faecalis*, também, foram analisadas. Para determinar a atividade antibacteriana das nanopartículas quando adicionadas ao cimento foram utilizados os testes de contato direto e limitado por membrana filtro. Após incubação a 37°C em meio de cultura fresco, 2 mL da cultura foi adicionado ao meio e incubados por 6 a 8 horas (37°C) até que a fase de crescimento exponencial fosse atingida. A concentração de bactérias no meio foi então, ajustada para uma densidade óptica de 0,1/600 nm. Discos de filtro de papel foram imersos na suspensão bacteriana por 10 minutos e mais tarde, removidos da suspensão para drenagem do líquido em excesso. Para o

teste DCT, aproximadamente 15 μ L de cimento recém-manipulado, foi colocado sobre os discos com as bactérias em uma microplaca com 96 poços a 37°C. Quatro discos foram usados para testar cada cimento. O tempo de contato entre o cimento e discos de papel foi por 30 minutos. Subsequentemente foram transferidos para tubos de ensaios contendo 2 mL de solução PBS, e centrifugado por 30 segundos e levado ao ultrassom com potência moderada (5-7 minutos). Cem microlitros da amostra, após diluições seriadas, foram banhadas e incubadas em aerobiose a 37°C por 24 horas para determinar as UFC. Discos de filtro de papel sem contato com cimento foram utilizados como controle. No teste restrito por membrana, uma membrana filtro foi colocada sobre o disco com bactérias antes da colocação do cimento e, então, conduzido conforme descrito anteriormente. Os resultados revelaram que no teste antibacteriano o cimento original apresentou forte atividade antibacteriana. Com a adição de ZnO-NP e CS-NP ao cimento, o número de células bacterianas viáveis nos discos de papel diminuiu em comparação com o cimento original. Foi observado que a adição de CS/ZnO-NP resultou em maior atividade, não significativamente superior, a ZnO-NP. A inserção de uma membrana de filtro reduziu significativamente a atividade de todos os cimentos e mostrou a capacidade de componentes antibacterianos em difundir para fora dos cimentos. O cimento original à base de OZE não apresentou qualquer atividade. Com a adição de ZnO-NP e CS/ZnO-NP os cimentos exibiram maior atividade, sendo esta maior, devido aos efeitos sinérgicos entre o CS-NP e NP-ZnO. Assim, os resultados mostraram que a adição de nanopartículas reforçou a capacidade do cimento de filtrar os componentes antibacterianos. Concluíram que esta investigação experimental destacou a vantagem de se utilizar ZnO-NP e CS-NP para inibir a recolonização bacteriana em canais radiculares e melhorar a capacidade antibacteriana de cimentos endodônticos. Entretanto, estudos adicionais precisam ser realizados antes de se recomendar o uso de antibacterianos nanoparticulados *in vivo* para evitar formação do biofilme.

Kreth et al. (2008) avaliaram, *in vitro*, a eficácia antimicrobiana de íons prata adicionados a um cimento endodôntico (Kerr Pulp Canal Sealer EWT[®]) sobre o *S. mutans*. Para este fim, realizaram estudos de inibição do crescimento e testes de viabilidade bacteriana. Foram medidas as zonas de inibição e a densidade óptica por microscopia confocal a laser. Os resultados mostram que os íons prata aumentaram a atividade antimicrobiana do cimento endodôntico contra *S. mutans*. Acrescentaram

ainda, haver uma indicação clara de que os íons prata incorporado ao cimento endodôntico afetou a integridade da membrana do microrganismo testado, o que poderia levar à diminuição da viabilidade das bactérias. Concluíram que este estudo revelou uma abordagem promissora para pesquisar outras terapêuticas biológicas e, por conseguinte, aumentar a taxa de sucesso do tratamento endodôntico.

Pasqualini et al. (2008) comparam a habilidade de selamento de canais radiculares obturados com guta-percha e cimento endodôntico com um novo material obturador termoplástico à base de polímeros sintéticos (Resilon[®]), utilizando modelo de microinfiltração e uma nova sequência de detecção de análise (One Cut Event Amplification (OCEAN[®]) frente ao *E. faecalis*. Noventa e seis dentes humanos extraídos, modelados com limas K e pela técnica utilizando ProTaper, foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n = 22) e obturados nos 5 mm apicais. Os Grupo R e RCH foram obturados pela técnica Resilon[®]/Epiphany[®]; Os grupos GP e GPCH foram obturados com guta-percha e cimento Pulp Canal Sealer EWT[®] pela técnica de onda contínua de condensação (System B[®]). Os grupo RCH e GPCH, antes de serem obturados, receberam medicação intracanal de Ca(OH)₂, sendo selados e armazenados em 100% de umidade relativa. Após sete dias, antes de serem obturados, a medicação intracanal foi removida com lavagem alternada de NaOCl a 5% e EDTA a 10%. Quatro espécimes foram utilizados como controles positivos e quatro como controles negativos. Os controles negativos (n = 4) foram obturados (dois com cimento Pulp Canal Sealer EWT[®]/guta-percha e dois com Resilon[®]/cimento resinoso) e completamente fechadas em toda a sua superfície com uma camada de verniz e depois cobertos com cera pegajosa, abrangendo também o ápice. Os controles positivos (n = 4), não foram obturados, sendo selados externamente com verniz e cera pegajosa a 3 mm de no ápice. Os espécimes esterilizados foram inoculados com 150 µL da cultura de *E. faecalis* e incubados em meio estéril por 47 dias. O DNA extraído das amostras mostrando turbidez foi aumentado por reação em cadeia da polimerase (PCR) e em seguida, identificado pela técnica OCEAN[®]. Os resultados obtidos revelaram que os controles positivos apresentaram turbidez após 24 horas, e a análise PCR-OCEAN[®] confirmou a presença do DNA alvo, enquanto os controles negativos não. apresentaram qualquer infecção do meio de cultura até o final do experimento, validando o modelo experimental. Em todas as amostras restantes, verificada a esterilidade por PCR e

OCEAN[®] até o final do experimento, resultaram em não contaminadas. Amostras de canais radiculares obturados com Resilon[®] apresentaram um maior número de eventos com microinfiltração do que os outros grupos. Concluíram que a técnica tradicional de obturação do canal radicular empregando guta-percha termoplastificada e um cimento a base de OZE proporcionou um melhor selamento apical do que a técnica Resilon[®], que foi introduzida como um método alternativo para obturar canais radiculares. Acrescentaram, ainda, que a medicação à base de Ca(OH)₂ não apresentou um impacto relevante sobre a qualidade do selamento apical.

Utilizando o teste DCT, Pérez et al. (2008) avaliaram, *in vitro*, o efeito antimicrobiano dos cimentos endodônticos: Endomethasone – Septodont[®], Endomethasone C - Septodont[®], Endion -Voco[®], Diaket - ESPE[®], Pulp Canal Sealer - SybronEndo[®] e AH26 - Dentsply DeTrey[®] frente aos microrganismos *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *F. nucleatum*. Amostras dos cimentos foram colocadas em Ágar estéril e mantidas a 37°C por 24 horas permitindo, assim, sua presa. Em seguida, foram retiradas do Ágar e armazenadas em temperatura ambiente por um, sete, 17 e 28 dias. Seguindo cada um destes períodos, foram colocadas em placas de Ágar inoculadas com uma suspensão de cada microrganismo e incubadas a 37°C nas condições de tempo e temperatura exigidos por cada microrganismo. Após as primeiras 6 horas de incubação, em duplicata, uma amostra da área de contato entre os espécimes testados e a placas de Ágar foi imediatamente transferida para outra placa de Ágar, prosseguindo a incubação por 24 e 72 horas, para os períodos de tempo de maturação dos cimentos. Uma área do Ágar inoculado que não entrou em contato com as amostras foi utilizada como controle. Os resultados foram avaliados considerando a presença ou ausência de crescimento microbiano revelando que para o grupo de microrganismos aeróbios e facultativos, verificou-se que todos os cimentos foram bactericidas contra *S. aureus* após 24 horas de incubação em todos os tempos experimentais. *C. albicans* foi sensível a todos os cimentos em todos os tempos. *E. faecalis* mostrou-se resistente aos seis cimentos testados após 6 horas de incubação. Após 24 horas de incubação foi sensível somente para Endomethasone[®] e Pulp Canal Sealer[®] para amostras com um dia de maturação. AH26[®] foi bactericida contra *E. faecalis* a partir de sete dias de maturação. Para 72 horas de

incubação com amostras de 17 e 28 dias de maturação, *E. faecalis* desenvolveu na presença de todos os cimentos testados, exceto para AH26[®]. Para o grupo de microrganismos anaeróbios verificou-se que *P. intermedia* desenvolveu apenas em contato com Endion[®] na maioria dos tempos experimentais. Após 6 horas em contato com as amostras com idade de um dia, UFC de *P. gingivalis* foram encontradas para Endomethasone C[®], Endion[®] e AH26[®]; mas o crescimento foi inibido no resto dos tempos avaliados. Todos os cimentos testados, em todos os tempos, foram bactericidas contra *F. nucleatum*. Concluíram que a eficácia dos cimentos testados não dependeu dos microrganismos anaeróbios testados, mas de sua formulação. A suscetibilidade dos microrganismos aeróbicos e facultativos para os cimentos testados pode ser devido às suas características estruturais, fatores de virulência e dos fatores condicionantes dos meios ecológicos. O tempo de contato entre cimentos e microrganismos não foi determinante para a eficácia antimicrobiana.

Slutzky-Goldberg et al. (2008) avaliaram o efeito antimicrobiano de quatro cimentos endodônticos frente ao *E. faecalis*, utilizando o teste DCT. Os cimentos pesquisados foram o AH Plus[®], Apexit Plus[®], Epiphany SE[®], e RoekoSeal[®]. O teste DCT foi baseado na determinação turbidimétrica do crescimento bacteriano em 96 microplacas. A cinética do crescimento em cada poço foi registrada a cada 30 minutos por 16 horas usando um espectrofotômetro com temperatura controlada a 37°C. As amostras foram examinadas imediatamente após a manipulação e em, dois, sete e 14 dias após incubação em solução PBS. O controle negativo consistiu de um conjunto de cavidades com o material testado, como nos poços experimentais, com igual volume de meio não inoculado. Os resultados revelaram que AH Plus[®] e RoekoSeal[®] foram ineficazes. Diferentes cimentos apresentaram efeitos variáveis sobre o crescimento bacteriano, com base na sua fórmula, a avaliação de ensaio, e de tempo. O uso do Epiphany SE[®] pode ser desafiador, e que a utilização de cimentos com material antibacteriano poderia ser vantajosa. Ressaltaram que o cimento endodôntico Apexit Plus[®] apresentou um efeito antibacteriano no curto prazo de 1 dia contra o *E. faecalis*, enquanto Epiphany SE[®] reforçada para o crescimento bacteriano de pelo menos sete dias. Concluíram que esses resultados devem ser considerados com cautela, e outras propriedades devem ser consideradas, por exemplo, a habilidade de selamento destes materiais

ao longo do tempo. Além disso, os dados apresentados dizem respeito às condições, *in vitro*, e testar a atividade antibacteriana, *in vivo*, poderá conduzir a resultados diferentes, porque a quantidade de fluido no canal radicular é limitada, e o efeito antimicrobiano do cimento poderá depender da capacidade do material penetrar nos túbulos dentinários para alcançar as bactérias, após remoção da *smear layer* infectada.

Utilizando o teste de difusão em Ágar, Smadi, Mahafzah e Khraisat (2008) avaliaram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de nove cimentos endodônticos sendo quatro à base de resina (EndoRez[®], Topseal[®], AH26[®] e AH Plus[®]), três à base de OZE (Dentalis KEZ[®], Sealite Regular[®] e Cortisomol[®]) e dois à base de Ca(OH)₂ (Sealapex[®] e Acroseal[®]). Os microrganismos testados foram: duas cepas de *S. aureus* em meio MH, duas cepas de *C. albicans* em meio de SDB e uma cepa de *E. faecalis* em Ágar sangue. Inóculos a partir de um crescimento de 24 horas dos organismos de ensaio foram adicionados em solução salina estéril e incubados a 37°C. Um cotonete estéril foi usado para distribuir os microrganismos testados nas placas de Ágar. Os cimentos foram adicionados em poços de 5 mm de diâmetro perfurados nestas placas sendo incubadas em uma atmosfera úmida. As placas foram observadas após 24 horas, 48 horas, no intervalo de sete dias e o diâmetro da zona de inibição para cada cimento foi medido e registrado. Solução salina estéril foi utilizada como controle negativo. As médias da atividade antimicrobiana de cada cimento e as médias de susceptibilidade antimicrobiana de cada cepa microbiana para todos os cimentos utilizados neste estudo foram calculadas. Os resultados da atividade antimicrobiana dos cimentos, em ordem decrescente, foram como segue: Sealite regular[®], Cortisemol[®], Dentalis KEZ[®], AH26[®], Sealapex[®], Acroseal[®] / Topseal[®], e Endorez[®]/AH Plus[®]. Concluíram que os cimentos endodônticos apresentaram diferentes efeitos inibitórios, dependendo do seu tipo e das cepas testadas e aqueles contendo formaldeído e eugenol em suas fórmulas provaram serem eficazes contra os microrganismos estudados. Acrescentaram ainda, que a incorporação de componentes antimicrobianos nos cimentos endodônticos pode tornar um fator essencial para prevenir um novo crescimento de bactérias residuais e atuar no controle da recontaminação do sistema de canais radiculares.

Tanomaru et al. (2008) avaliaram a atividade antimicrobiana do cimento endodôntico contendo Ca(OH)₂ (Acroseal[®]) e do cimento à base de MTA[®] (Endo

CPM Sealer[®]), comparados com cimentos tradicionais (Sealapex[®], Sealer 26[®], e Intrafill[®]), e com o MTA-Angelus[®], branco, sobre cinco diferentes espécies de microrganismos (*M. luteus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *E. faecalis*). Os materiais foram avaliados logo após a manipulação, assim como seus componentes. O método utilizado foi o de difusão em Ágar. Uma camada base foi confeccionada usando Ágar MH e poços foram formados pela remoção do Ágar. Os materiais foram colocados nos poços logo após sua manipulação. As placas foram mantidas na temperatura ambiente por 2 horas para pré-difusão e então incubadas a 37°C por 24 horas. O diâmetro médio da zona de inibição foi aferido em milímetros. Os resultados demonstraram que o Sealapex[®] e sua pasta base, o Sealer 26[®] e seu pó, o Endo CPM Sealer[®] e seu pó, o MTA[®] branco e seu pó apresentaram atividade antimicrobiana sobre todas as cepas avaliadas. O cimento IntraFill[®] e seu líquido apresentaram ação antimicrobiana sobre todos os microrganismos exceto *P. aeruginosa*. O Acroseal[®] foi eficaz apenas contra *M. luteus* e *S. aureus*. Concluíram que, embora Acroseal[®] apresente uma fórmula comparável ao Sealer 26[®], mostrou uma menor ação antimicrobiana, sendo seu efeito restrito a inibição do *M. luteus* e *S. aureus*.

Yasuda, Kamaguchi e Saito (2008) compararam a atividade antimicrobiana de um novo cimento endodôntico à base de resina Super-Bond[®] (SB) e cinco outros cimentos endodônticos (Sealapex[®], AH Plus[®], Roeko Seal Automix[®], Canals N[®] e ProRoot[®]) contra patógenos utilizando um método de dupla camada. As cepas utilizadas foram: *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *S. mutans* e *S. sanguinis*. Os microrganismos preparados foram corados utilizando cloreto de trifeniltetrazólio, e as zonas de inibição de crescimento destes foram medidas. Os resultados indicaram que o cimento AH Plus[®] exibiu a maior atividade antimicrobiana. A atividade do cimento SB foi significativamente menor do que a dos outros cimentos, exceto para ProRoot[®] contra o *S. aureus*, *C. albicans*, *S. mutans* e *S. sanguinis*, mas nenhuma atividade contra *E. faecalis* foi detectada. Por outro lado, ProRoot[®] não mostrou atividade antimicrobiana contra os microrganismos testados. Concluíram que o cimento SB não ofereceu vantagem antimicrobiana sobre os outros cimentos testados, exceto para ProRoot[®].

Eldeniz e Orstavik (2009) avaliaram a resistência, *ex vivo*, sobre a infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com cinco novos cimentos

endodônticos: RC Sealer[®], Epiphany[®], EndoREZ[®], GuttaFlow[®] e Acroseal[®] comparando-os com Apexit[®], AH Plus[®] e RoekoSeal[®] ao longo de um período de 40 dias. Cento e quarenta e quatro dentes humanos unirradiculares foram divididos aleatoriamente em oito grupos testes (n = 15) e dois grupos controles (n = 12). Os canais radiculares foram preenchidos por meio da técnica do cone único com guta-percha, exceto nos grupos do Epiphany[®] e EndoREZ[®]. Estes foram preenchidos com Resilon[®] e guta-percha coberta por resina, respectivamente. A guta-percha superficial do grupo experimental GuttaFlow[®] foi coberta com um primer antes da obturação. As raízes obturadas foram incorporadas em um sistema padrão de câmara dividida utilizando *S. mutans* como marcador microbiano. A infiltração foi avaliada pela turvação do caldo na parte inferior da câmara todos os dias, durante os 40 dias. Os Resultados demonstraram que nos grupos do Epiphany[®], GuttaFlow[®] com primer e Apexit[®] a infiltração foi significativamente melhor impedida do que AH Plus[®], Sealer RC[®], RoekoSeal[®], EndoREZ[®] e Acroseal[®]. Nenhum dos espécimes do AH Plus[®], Sealer RC[®], EndoREZ[®] e RoekoSeal[®] resistiu à penetração bacteriana por 40 dias. Concluíram que os novos cimentos, Epiphany[®] e GuttaFlow[®] com primer, juntamente com Apexit[®] mostraram melhores resistências à penetração bacteriana aos outros novos ou tradicionais cimentos testados.

Leonardi et al. (2009) pesquisaram a ação antimicrobiana dos cimentos endodônticos Endofill[®], Sealer 26[®], AHPlus[®] e Acroseal[®]. A avaliação foi feita pelo método de estudo de difusão em Ágar, em placas previamente inoculadas com os microrganismos *E. coli*, *E. faecalis*, *Bacillus cereus* e *S. aureus*. Após 48 horas de incubação em estufa a 37°C, a leitura foi realizada verificando-se ausência ou presença de halo de inibição, sendo estes medidos por três observadores com auxílio de uma régua milimetrada transparente. Os resultados revelaram que o cimento Acroseal[®] promoveu a formação de halo de inibição apenas para *S. aureus* e *B. cereus*; contra *B. cereus* causou o menor halo. O cimento AH Plus[®] mostrou maior halo de inibição para *E. coli*, seguido por *S. aureus*, *E. faecalis* e *B. cereus*. Para o cimento Sealer 26[®], o maior halo de inibição ocorreu para *S. aureus*, e em sequência vieram *E. coli*, *B. cereus* e *E. faecalis*. O cimento EndoFill[®] mostrou halo de inibição maior ante *E. coli*, seguido por *S. aureus*, *B. cereus* e *E. faecalis*. O maior halo formado entre os cimentos testados foi para o AH Plus[®] perante *E. coli*. Concluíram que a maioria dos cimentos endodônticos avaliados apresentaram

atividade antimicrobiana contra os microrganismos usados, e os cimentos que mostraram maior poder antimicrobiano foram o AH Plus® e o EndoFill®.

Utilizando o método de difusão em ágar Pinheiro et al. (2009) pesquisaram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos Acroseal® e Epiphany®, um cimento experimental à base do polímero da mamona, Polifil®, e um agente primer® (primer autoadesivo do sistema Epiphany®), contra *E. faecalis*. O cimento OZE foi utilizado como controle. Para o teste de difusão em Ágar, uma camada de base composta de 10 ml de infusão cérebro coração (Ágar BHI) com adição de 2% de ágar bacteriológico foi derramado em 20 X 100 mm em placas de Petri estéreis. Após a solidificação, as placas foram levadas para uma estufa a 37°C por 24 horas para verificar a esterilidade. Para o inóculo, cultura em caldo BHI, incubado a 37°C por um período de 15 a 18 horas, foi utilizada para padronizar a concentração final de $1,5 \times 10^8$ células/mL usando um espectrofotômetro com comprimento de onda de 630 nm. Imediatamente após a retirada da incubadora, os inóculos bacterianos foram semeados com cotonetes de algodão em todas as placas, com base na escala de McFarland, usando *Tryptone Soy Broth* (TSB), com exceção de uma placa em que *E. faecalis* não foi semeado (controle negativo). Cinco poços de 6 X 4 mm por placa foram feitos em pontos equidistantes e imediatamente preenchidos com os materiais testados e controle. Após a deposição dos materiais, 15 mL de Ágar BHI foi derramada em cada placa, sendo mantidos em temperatura ambiente por 2 horas, para a pré-difusão do material e, em seguida, incubados a 37°C por 24 a 48 horas. Após as 24 horas iniciais, as zonas de inibição do crescimento microbiano em torno dos poços foram medidas com uma régua milimetrada. Os resultados revelaram que Epifany® e Polifil® não apresentaram atividade antibacteriana (sem zonas de inibição de crescimento microbiano). O primer® produziu as maiores zonas de inibição, seguido por Acroseal® e OZE. Concluíram que o *E. faecalis* foi resistente a Epifany® e Polifil®, enquanto o primer e selador Acroseal foram eficazes contra este microrganismo nas condições testadas.

Sagsen et al. (2009) avaliaram a eficiência antimicrobiana de diferentes cimentos endodônticos (AH Plus®, MCS Canal Sealer®, Epiphany SE®, Sealapex® e Sealer®) sobre *E. faecalis* em diferentes intervalos de tempo. Setenta e cinco miligramas de cada cimento foram adicionados em diferentes tubos estéreis e

avaliados aos 20 minutos, 24 horas, sete e 30 dias. Um teste tempo/eliminação (TKA) foi usado para determinar a eficácia antimicrobiana do cimento. Os resultados demonstraram que os cimentos AH Plus[®] e MCS Canal Sealer[®] apresentaram ação bactericida aos 20 minutos e 24 horas, porém, o MCS Canal Sealer[®] só foi bactericida no sétimo e trigésimo dia. Em relação ao Epiphany SE[®] e Sealapex[®], estes apresentaram ação bacteriostática no sétimo e trigésimo dias, mas indiferente aos 20 minutos e 24 horas. Os cimentos MCS Canal Sealer[®] e AH Plus[®] apresentaram ação bactericida em amostras recém-manipuladas, mas MCS Canal Sealer[®] só foi bactericida em períodos de tempo mais longos. Os cimentos Epiphany SE[®], Sealer[®] e Sealapex[®] apresentaram ação bacteriostática em períodos de tempo mais longos, mas indiferente aos 20 minutos e 24 horas. Concluíram que o efeito antibacteriano do cimento MCS Canal Sealer[®] foi maior do que os outros cimentos avaliados e acrescentaram que, os cimentos contendo eugenol e resina epóxica seriam preferíveis devido ao seu efeito antibacteriano.

Com a finalidade de determinar a frequência da colonização bacteriana e caracterizar estes microrganismos presentes nas extremidades de raízes dentárias e em lesões perirradiculares, Subramanian e Mickel (2009) selecionaram e recolheram amostras de tecido perirradicular e de ressecção terminal das raízes de trinta e quatro pacientes adultos com indicação cirúrgica para apicectomia devido à presença de lesão perirradicular persistente após a terapia endodôntica. O tecido perirradicular removido por curetagem e 2 a 3 mm dos ápices radiculares ressecados foram armazenados em tubos contendo 1 mL de água estéril e armazenadas a -20°C até serem processadas. Amostras de tecido periosteal de seis casos, selecionados aleatoriamente foram coletadas em áreas adjacentes aos locais cirúrgicos para testar a contaminação bacteriana do sítio cirúrgico. Os níveis totais de bactérias foram estimados para 34 pares de lesões extensas e ápices radiculares em tempo real, utilizando a PCR com primers universais para bactérias. Dezesesseis pares destas amostras foram analisados utilizando clonagem e sequenciamento do ribossoma 16S para identificação bacteriana. Os resultados demonstraram que maiores números e níveis de bactérias foram detectados nos ápices radiculares. As lesões perirradiculares exibiram um perfil microbiano diversificado com muitos filotipos selvagens. *E. faecalis* e *Burkholderia cepacia* predominaram em ambas as amostras. *Campylobacter gracilis* e *Streptococcus gordonii* foram associadas com os

ápices radiculares, enquanto *Atopobium rimaie*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus genomospecies C8*, *Dialister* sp. E2-20 E1 e *Eubacterium strain A35MT* foram associadas a lesões perirradiculares. Concluíram que as lesões perirradiculares persistentes são infecções polimicrobianas com muitas espécies de bactérias ainda não cultivadas e desconhecidas. A carga bacteriana e o perfil microbiano do ápice radicular foram, significativamente, diferentes ao da lesão de tecido mole, indicando a presença de diversas populações bacterianas nestes tecidos, podendo dar suporte a um modelo de biofilme persistente dentro e em torno do sistema de canais radiculares, levando a uma infecção crônica refratária.

Realizando uma revisão sobre as razões potenciais para a alta ocorrência de *Enterococcus* em canais radiculares obturados, Zehnder e Guggenheim (2009) verificaram, após levantamento bibliográfico, um elevado interesse neste gênero bacteriano, especialmente nas espécies de *E. faecalis*. Embora existam excelentes comentários sobre aspectos microbiológicos envolvendo este microrganismo e sua eliminação através de antimicrobianos, parece haver uma falta de conhecimento quando se trata de questionar por que *Enterococos* são susceptíveis de serem encontrados no sistema de canais radiculares selados. A necrose ou o sistema de canais radiculares indevidamente obturados pode ser um habitat deste microrganismo, especialmente o *E. faecalis*. Na teoria, existem duas possibilidades para explicar esta conclusão: 1) *Enterococcus* são colonizadores primários do sistema de canal radicular de dentes com necrose e sobrevivem ao tratamento endodôntico, incluindo dentes com obturação adequada e; 2) são invasores oportunistas da coroa de dentes necrosados, indevidamente selados ou de sistema de canais obturados, portanto, invadem este sistema durante ou após tratamento endodôntico. As poucas evidências disponíveis na literatura atual apontam na direção em que o *Enterococcus* chega ao sistema de canal radicular, em algum momento após o início do tratamento endodôntico, se o selamento coronário for inadequado. Concluíram, a partir das informações, que estas bactérias não estão entre os primeiros invasores do sistema de canal radicular. Sua origem mais provável é da fonte alimentar. Futuros estudos devem ser direcionados para identificar os fatores de virulência que favorecem a ocorrência de *Enterococcus* em canais radiculares selados.

Zhang et al. (2009) estudaram, *in vitro*, a eficácia antibacteriana de sete diferentes cimentos endodônticos (AH Plus[®], Apexit Plus[®], iRoot SP[®], Tubli Seal[®],

Sealapex[®], Epiphany SE[®], e EndoRez[®]) frente ao *E. faecalis* utilizando um teste de contato direto modificado. Em uma placa de microtitulação com 96 poços uma área de mesmo volume foi coberta com uma quantidade igual de cada material. Os cimentos foram testados após a manipulação e um, três e sete dias de presa em atmosfera úmida a 37°C. Foram cuidadosamente colocados 10 µL de suspensão bacteriana sobre a superfície de cada cimento. Após a incubação de 100% de umidade a 37°C por 2, 5, 20 e 60 minutos, 240 µL de TSB foi adicionado a cada poço. Depois de misturada delicadamente, por 1 minuto, a suspensão bacteriana de cada poço foi transferida e diluída em TSB. Após a incubação a 37°C por 24 horas, colônias nas placas foram contadas, e as UFC/mL foram calculadas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados indicaram que iRoot SP[®] eliminou todas as bactérias em 2 minutos; AH Plus[®] em 5 minutos; EndoRez[®] em 20 minutos e; Sealapex[®] e Epiphany SE[®] em 60 minutos. Apexit Plus[®] e Tubli Seal[®] não eliminaram todas as bactérias em 60 minutos. Para um e três dias de amostras, iRoot SP[®] e EndoRez[®] apresentaram a mais forte atividade antibacteriana, seguido pelo Sealapex[®] e Epiphany SE[®]. Tubli Seal[®] e AH Plus[®] não mostraram qualquer atividade antibacteriana significativa. De todos os cimentos estudados, o Apexit Plus[®] apresentou a menor atividade antimicrobiana. Concluíram que os cimentos endodônticos iRoot SP[®], AH Plus[®] e EndoRez[®] recém-manipulados eliminaram eficazmente o *E. faecalis*. Porém, iRoot SP[®] e EndoRez[®] continuaram eficazes para três e sete dias após sua manipulação. Sealapex[®] e EndoRez[®] foram os únicos cimentos a apresentar atividade antimicrobiana mesmo em sete dias após sua manipulação.

3 PROPOSIÇÃO

Verificar, *in vitro*, a presença de contaminação dos cimentos endodônticos Fill Canal[®], EndoFill[®], Sealer 26[®], AH Plus[®], Sealapex[®] e MTA Fillapex[®] no momento do rompimento do lacre e após sete, 14 e 28 dias de uso.

4 METODOLOGIA

4.1 LOCAL DA PESQUISA

O presente estudo desenvolveu-se nas Clínicas de Graduação das Disciplinas de Endodontia e dos Estágios de Clínica Integrada em Atenção Secundária da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) em conjunto com o Núcleo de Identificação e Quantificação (NIQUA) da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UFJF, onde foram realizadas as preparações e coletas das amostras, bem como, os ensaios microbiológicos.

4.2 TIPO DE ESTUDO

Estudo experimental, intervencional e quali-quantitativo: 1) experimental, pois pode produzir a evidência mais forte para causa e efeito, apresentando uma resposta mais rápida à questão da pesquisa; 2) intervencional, pois foi conduzido em circunstâncias controladas, nas quais foram manuseadas as condições para investigar o efeito da manipulação; 3) qualitativo, pois se buscou verificar a flexibilidade do enfoque para permitir descobertas inesperadas em pesquisa sobre aspectos particulares e verificar o fenômeno específico de cada material e; 4) quantitativo, tendo em vista que houve repetição das leituras e foi preciso generalizar resultados e compará-los entre diferentes materiais (FREIRE; PATTUSSI, 2005).

4.3 MATERIAIS

- Caldo infuso cérebro e coração (Himedia[®])
- Ágar infuso cérebro e coração (Himedia[®])
- *Caldo Sabouraud dextrose 2%* (Himedia[®])
- *Tryptone soya Broth* (Himedia[®])
- Cloreto de sódio PA (Isofar)
- Álcool etílico absoluto (Isofar)
- Alça calibrada descartável 10 UI (Cral plast)
- Unidade filtrante para seringa Millex GV (Millipore)
- Espátula de aço inoxidável n.º. 70 (Duflex[®])
- Autoclave (HA-SERCON[®]); (SB 18-Phoenix[®])
- Balança analítica (HR 200-AND[®])
- Estufa microbiológica (OREON 502-FANEM[®])
- Pipetas de 1 mL, 5 mL e 10 mL
- Tubos de ensaio
- Caneta marca-texto
- Capela de fluxo laminar (3027-TROX[®])

4.4 CIMENTOS PESQUISADOS

Foram utilizados seis cimentos endodônticos: dois à base de óxido de zinco e eugenol (EndoFill[®] e FillCanal[®]), dois à base de resina epóxica Sealer 26[®] e AH Plus[®]) e dois à base de Hidróxido de cálcio (Sealapex[®] e MTA Fillapex[®]) (Figura 1).

CIMENTO	COMPOSIÇÃO	LOTE	FABRICANTE
EndoFill®	Pó: óxido de zinco; resina hidrogenada; subcarbonato de bismuto; sulfato de bário; borato de sódio. Líquido: eugenol; óleo de amêndoa doce.	024480A	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça.
FillCanal®	Pó: óxido de zinco; resina hidrogenada; subcarbonato de bismuto; sulfato de bário; borato de sódio. Líquido: eugenol; óleo de amêndoas doce.	08020 08003	Technew com. Ind. Ltda., Rio de Janeiro/RJ, Brasil.
Sealer 26®	Pó: óxido de bismuto; hidróxido de cálcio; hexametileno tetramina; dióxido de titânio. Resina: epoxibisfenol.	126273B	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça.
AH Plus®	Pasta A: resina epóxica; tungstênio de cálcio; óxido de zircônio; aerossil; óxido de ferro. Pasta B: amina adamantana; N, N-Dibencil-5 oxanonano - diamina-1,9; TCD-Diamina; tungsteanato de cálcio; óxido de zircônio; aerossil; óleo de silicone.	1003000954	Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça.
Sealapex®	Pasta base: óxido de cálcio; sulfato de bário; óxido de zinco; dióxido de titânio; estearato de zinco. Pasta catalizadora: salicilato de isobutila; salicilato de metila; pigmento.	9-1223	SybronEndo Kerr, Glendora, USA.
MTA Fillapex®	Resina salicilato; resina diluente, resina natural, óxido de bismuto; sílica nanoparticulada; trióxido agregado mineral; pigmentos.	15261	Ângelus Ind. Prod. Odontológicos S/A, Londrina/PR, Brasil.

Quadro 1 – Quadro demonstrativo dos cimentos pesquisados.

4.5 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E DIVISÃO DOS GRUPOS

Os cimentos e seus constituintes foram divididos em seis grupos e seus respectivos subgrupos: G1) EndoFill®: A – pó, B – líquido, C – cimento; G2) FillCanal®: A – pó, B – líquido, C – cimento; G3) Sealer 26®: A – pó, B – resina, C –

cimento; G4) AH Plus®: A – pasta A, B – pasta B, C – cimento; G5) Sealapex®: A – pasta base, B – pasta catalizadora, C – cimento e; G6) MTA Fillapex®: A – pasta base, B – pasta catalizadora, C – cimento (Figuras 2 e 3).



Figura 2 – Fotografias dos cimentos dos grupos G1, G2 e G3.



Figura 3 – Fotografias dos cimentos dos grupos G4, G5 e G6.

Após a primeira coleta do pó, líquido e/ou pasta e de todos os cimentos endodônticos (tempo “0” – rompimento do lacre), estes ficaram à disposição dos alunos das Clínicas de Graduação em Endodontia e Atenção Secundária (FO/UFJF), para utilização de forma aleatória. O mesmo procedimento foi realizado aos sete, 14 e 28 dias.

A manipulação dos cimentos, conforme as recomendações de cada fabricante e a coleta das amostras para cada classe microbiológica (bactérias e fungos) foi realizada pelo pesquisador, separadamente, no interior de capela de fluxo laminar (3027-TROX®), no intervalo de tempo igual a 05 minutos, utilizando placas de vidro e espátulas duplas 70 (Duflex®, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil) (Figura 4), devidamente esterilizadas, em autoclave (HA-SERCON®) (Figura 5) junto à Faculdade de Odontologia da UFJF.

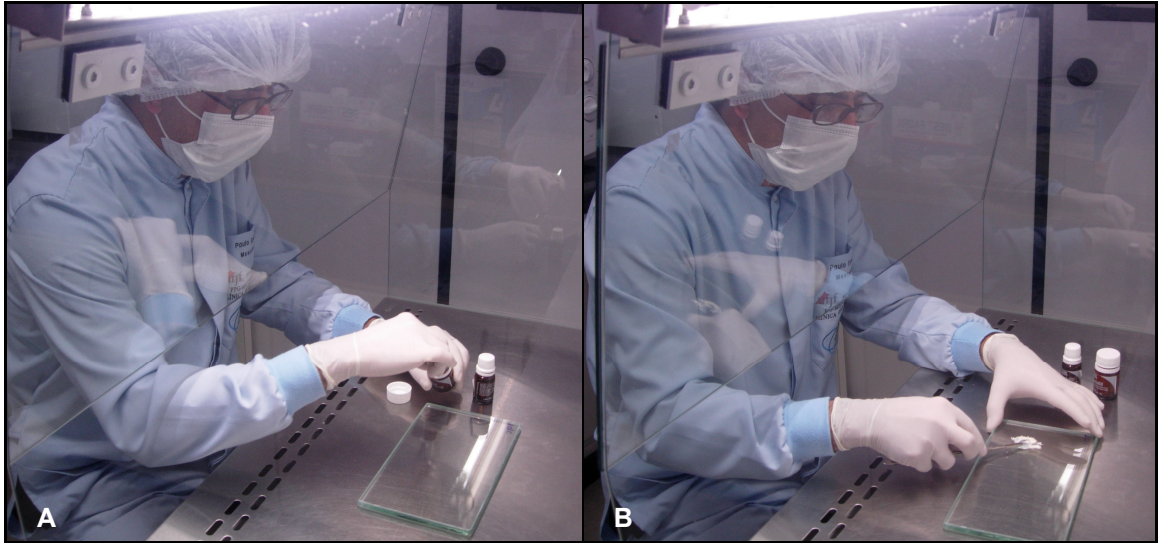


Figura 4 – A e B) fotografias da manipulação dos cimentos no interior da capela de fluxo laminar.

Todos os cimentos e seus constituintes, bem como o controle positivo e negativo foram analisados em triplicada, totalizando 240 amostras, que foram coletadas no interior da capela de fluxo laminar (Figura 5), e então acondicionadas em tubos de ensaio estéreis contendo meio enriquecido estéril para bactérias e fungos, nos períodos de zero, sete, 14 e 28 dias (Figura 6).

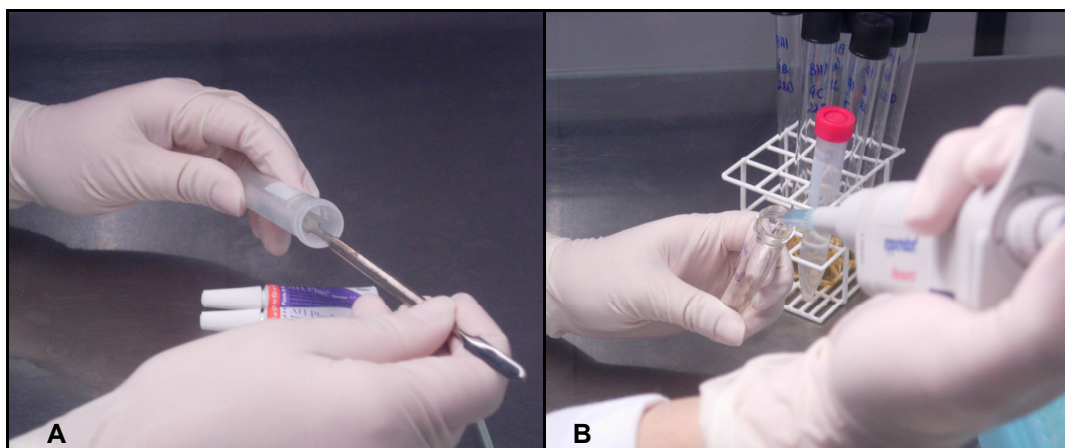


Figura 5 – A e B) fotografias da coleta das amostras em capela de fluxo laminar.

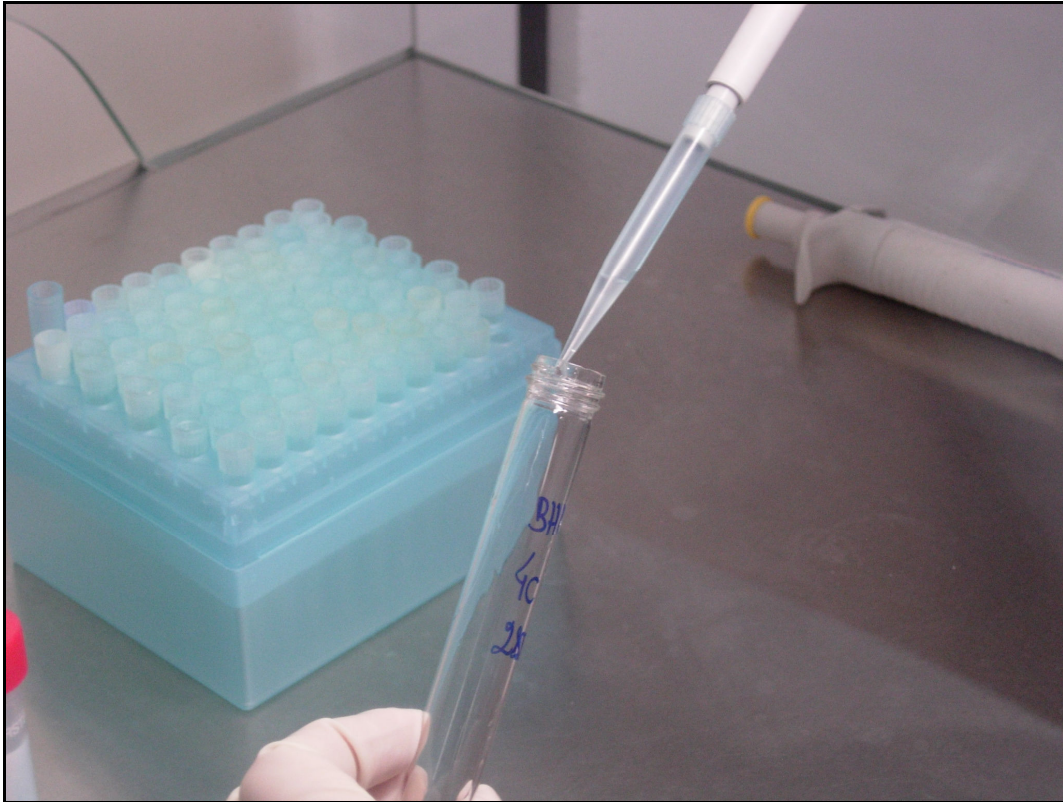


Figura 6 – Fotografia do condicionamento das amostras em tubos de ensaio estéreis contendo meio enriquecido estéril para bactérias e fungos.

Previamente a sua utilização, tanto os tubos de ensaios quanto os meios de cultura foram esterilizados em autoclave (SB 18-Phoenix[®]) a 122°C por 20 minutos, de forma a eliminar qualquer organismo vivo contaminante.

4.6 ENSAIO MICROBIOLÓGICO

Uma balança analítica (HR 200-AND[®]) (Figura 7) foi utilizada para pesar o pó, a pasta e o cimento dos materiais pesquisados.

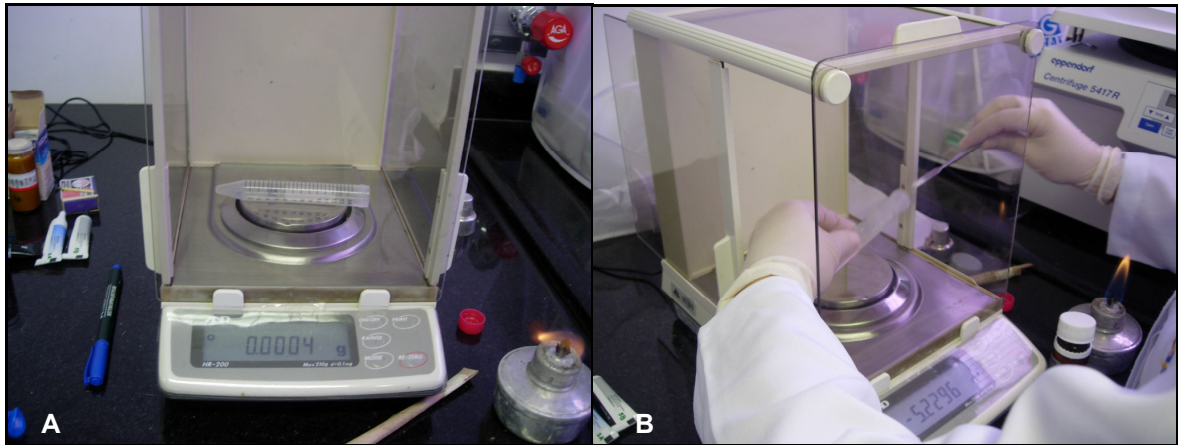


Figura 7 – A e B) fotografias da pesagem do pó, da pasta e do cimento em balança analítica – FFB/UFJF.

Para a realização do ensaio foram preparadas as diluições de acordo com seus respectivos grupos e subgrupos (Tabela 1).

Tabela 1 – Preparo das diluições dos grupos e subgrupos.

Grupos	Pó (A)	Pasta (A)	Líquido (B)	Resina (B)	Pasta (B)	Cimento (C)
G1	0,5 mg/mL		10 μ L/mL			0,5 mg/mL
G2	0,5 mg/mL		10 μ L/mL			0,5 mg/mL
G3	0,5 mg/mL			0,5 mg/mL		0,5 mg/mL
G4		0,5 mg/mL			0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
G5		0,5 mg/mL*			0,5 mg/mL**	0,5 mg/mL
G6		0,5 mg/mL*			0,5 mg/mL**	0,5 mg/mL

G1 – EndoFill[®]; G2 – FillCanal[®]; G3 – Sealer 26[®]; G4 – AH Plus[®]; G5 – Sealapex[®]; G6 – MTA Fillapex[®]; * pasta base; **pasta catalizadora.

Tanto para pó quanto para a pasta e cimento, foram, em seguida, adicionados 100 μ L de uma solução tensoativa a 2% (dimetilsulfóxido – *tween* 80, 1:1 v/v) e o volume final completado para 10 mL com solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%).

Para os líquidos (solução 10 μ L/mL salina) foram pipetados 100 μ L do líquido dos cimentos EndoFill[®] (subgrupo 1B) e FillCanal[®] (subgrupo 2B) e, em seguida, adicionou-se 100 μ L de uma solução tensoativa a 2% (dimetilsulfóxido: *tween* 80, 1:1 v/v) e o volume final completado para 10 mL com solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%).

Todas as soluções foram submetidas a banho ultrassônico (USC 1400-UNIQUE®) por 03 minutos.

Após homogeneização das soluções, o volume de 100 µL de cada solução diluída foi transferido para tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL dos meios de cultura *Tryptone Soya Broth* (TSB) (Figura 8) e caldo infuso cérebro e coração (BHI) (Figura 9), meios seletivos para bactérias, e *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) (Figura 10) meio seletivo para fungos, sendo estes experimentos realizados em triplicata.

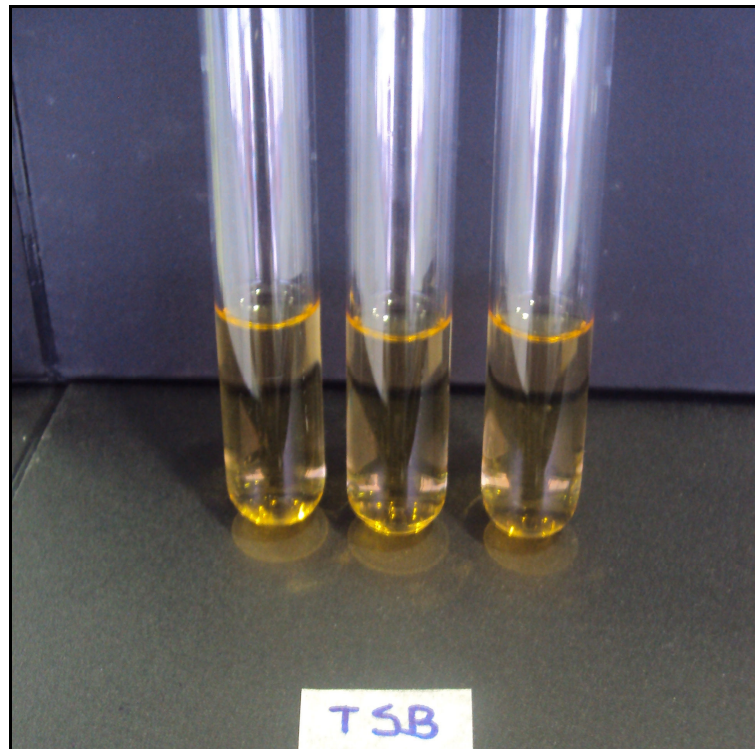


Figura 8 – Fotografia de tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL do meio de cultura *Tryptone Soya Broth* (TSB).

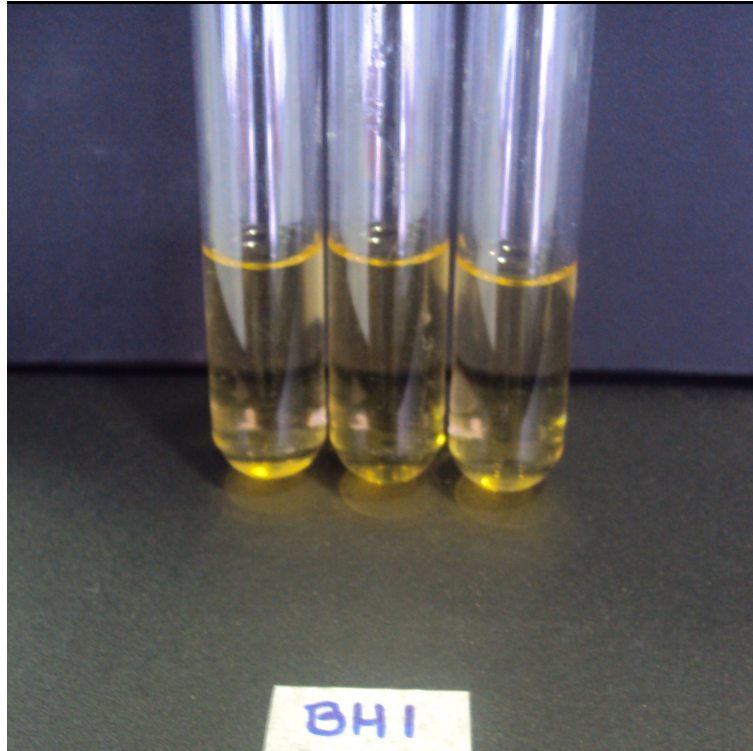


Figura 9 – Fotografia de tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL do meio de cultura caldo infuso cérebro e coração (BHI).

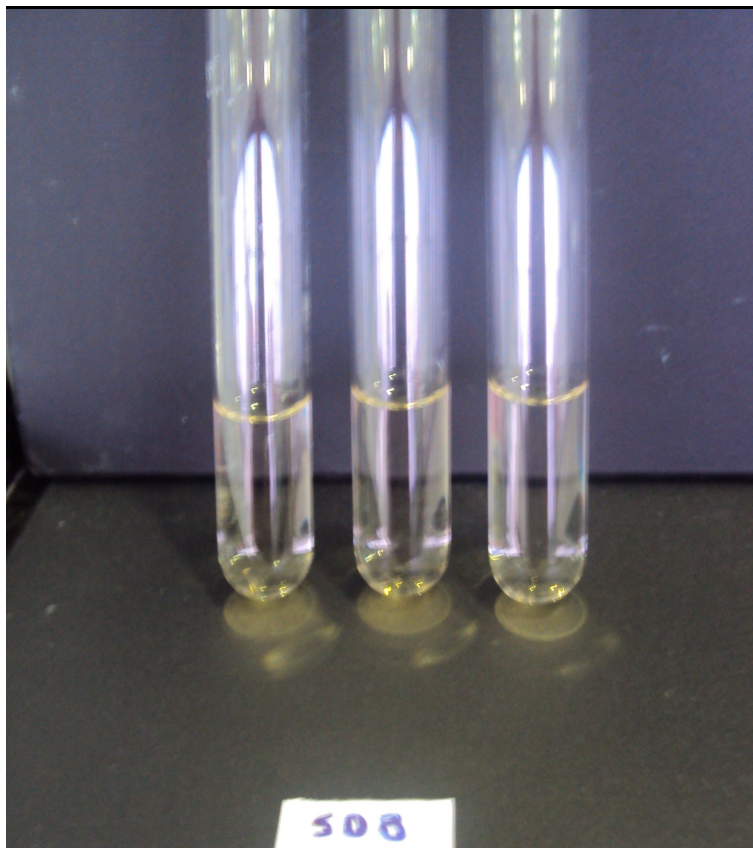


Figura 10 – Fotografia de tubos de ensaios estéreis contendo 04 mL do meio de cultura *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB).

Como controle positivo, foi adicionado, respectivamente, aos meios de cultura TSB e SDB, 100 μL de suspensão (25% transmitância) das cepas padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) para bactérias e *Candida albicans* (ATCC 10231) para fungos. O controle negativo foi composto de 100 μL de solução de tensoativo a 2% em solução fisiológica estéril, adicionados aos meios de cultura.

Em seguida, foi realizada a incubação dos mesmos em estufa microbiológica (OREON 502-FANEM[®]) para a verificação do crescimento de bactérias na temperatura de 37°C, por um período de 48 horas, e para os fungos, na temperatura de 25°C, por 120 horas.

Após o período de incubação, os tubos foram lidos e a turbidez do meio de cultura foi avaliada visualmente, por comparação com os tubos referentes ao controle positivo, que ficaram turvos e o controle negativo, límpidos (Figura 11).

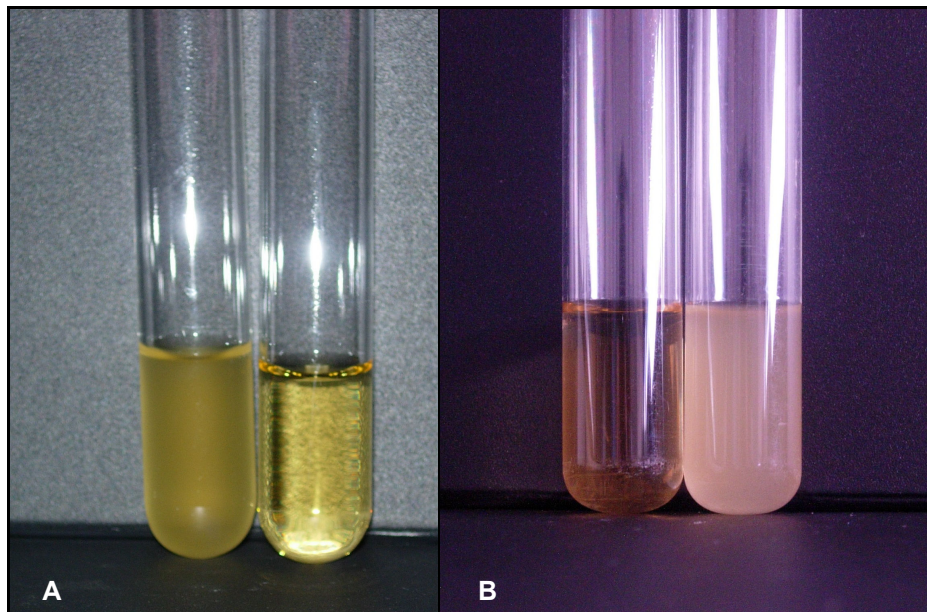


Figura 11 – A e B) fotografias de tubos turvos (controle positivo) e límpidos (controle negativo).

Posteriormente de cada tubo foram transferidos 25 μL da solução para uma microplaca estéril de 96 poços (Figura 12) contendo 175 μL do respectivo meio de cultura, diluindo assim os agentes antimicrobianos presentes nos cimentos (Figura 13). Em seguida as microplacas foram incubadas a 37°C por dois dias para bactérias, e 25°C por sete dias para fungos.

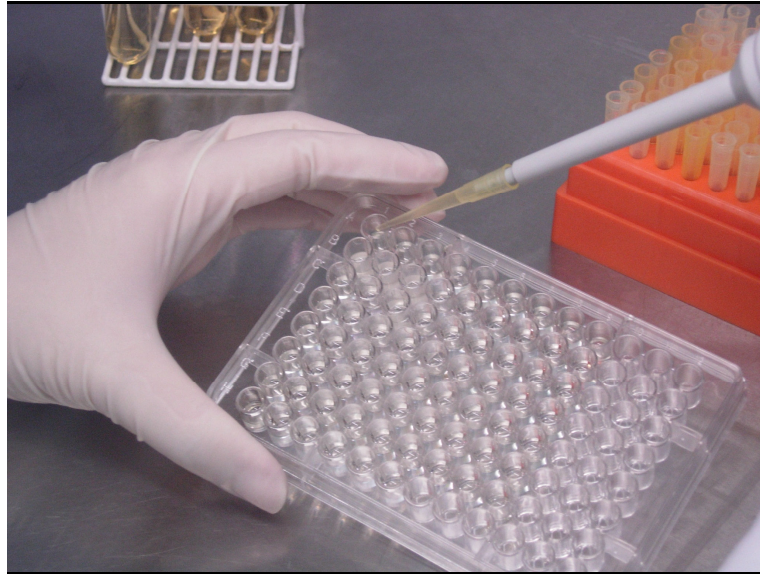


Figura 12 – Fotografia da microplaca estéril de 96 poços onde foram inseridos 175 μ L de cada meio de cultura.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C ⁻	C ⁻	C ⁻	3A	3A	3A	5C	5C	5C			
B	C ⁺	C ⁺	C ⁺	3B	3B	3B	6A	6A	6A			
C	1A	1A	1A	3C	3C	3C	6B	6B	6B			
D	1B	1B	1B	4A	4A	4A	6C	6C	6C			
E	1C	1C	1C	4B	4B	4B						
F	2A	2A	2A	4C	4C	4C						
G	2B	2B	2B	5A	5A	5A						
H	2C	2C	2C	5B	5B	5B						

1A: EndoFill[®] (pó); 1B: EndoFill[®] (líquido); 1C: EndoFill[®] (cimento); 2A: FillCanal[®] (pó); 2B: FillCanal[®] (líquido); 2C: FillCanal[®] (cimento); 3A: Sealer 26[®] (pó); 3B: Sealer 26[®] (resina); 3C: Sealer 26[®] (cimento); 4A: AH Plus[®] (pasta A); 4B: AH Plus[®] (pasta B); 4C: AH Plus[®] (cimento); 5A: Sealapex[®] (pasta base); 5B: Sealapex[®] (pasta catalizadora); 5C: Sealapex[®] (cimento); 6A: MTA Fillapex[®] (pasta A); 6B: MTA Fillapex[®] (pasta B); 6C: MTA Fillapex[®] (cimento); C⁻: controle negativo; C⁺: controle positivo.

Figura 13 – Quadro representativo da microplaca de 96 poços com as soluções testadas e controles em triplicata.

Após o período de incubação foi avaliado o desenvolvimento de turbidez (resultado positivo) para cada poço.

5 RESULTADOS

Os resultados dos testes bioquímicos (em triplicata), quanto à contaminação por bactérias (Figuras 14 e 15) e fungos (Figura 16), de acordo com a metodologia utilizada, não apresentaram crescimento microbiológico.

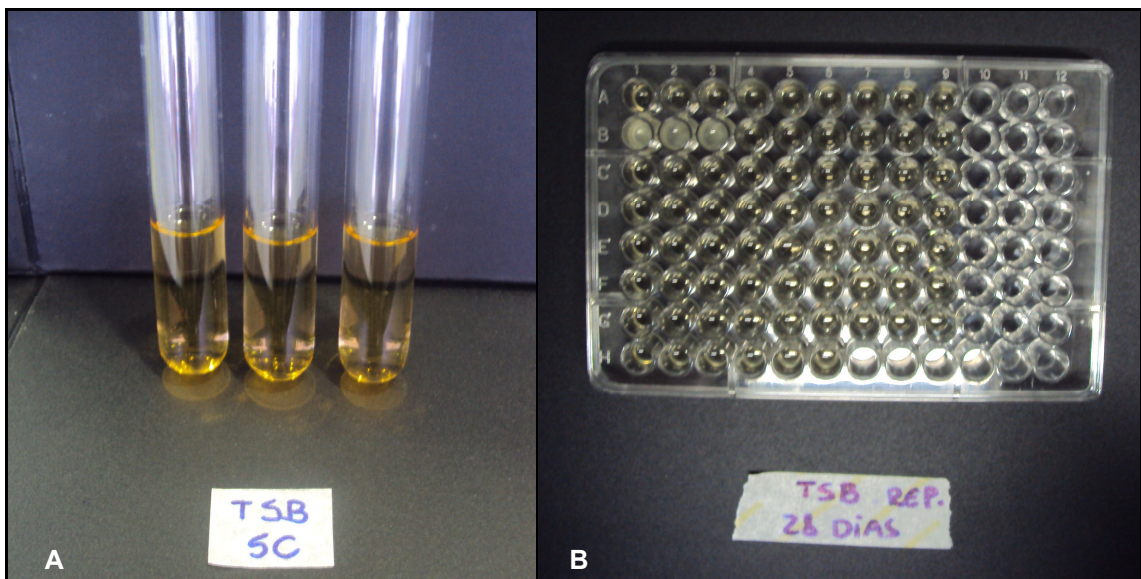


Figura 14 – Fotografias dos tubos (A) e da microplaca (B) contendo meio de cultura TSB isentos de contaminação após 28 dias.

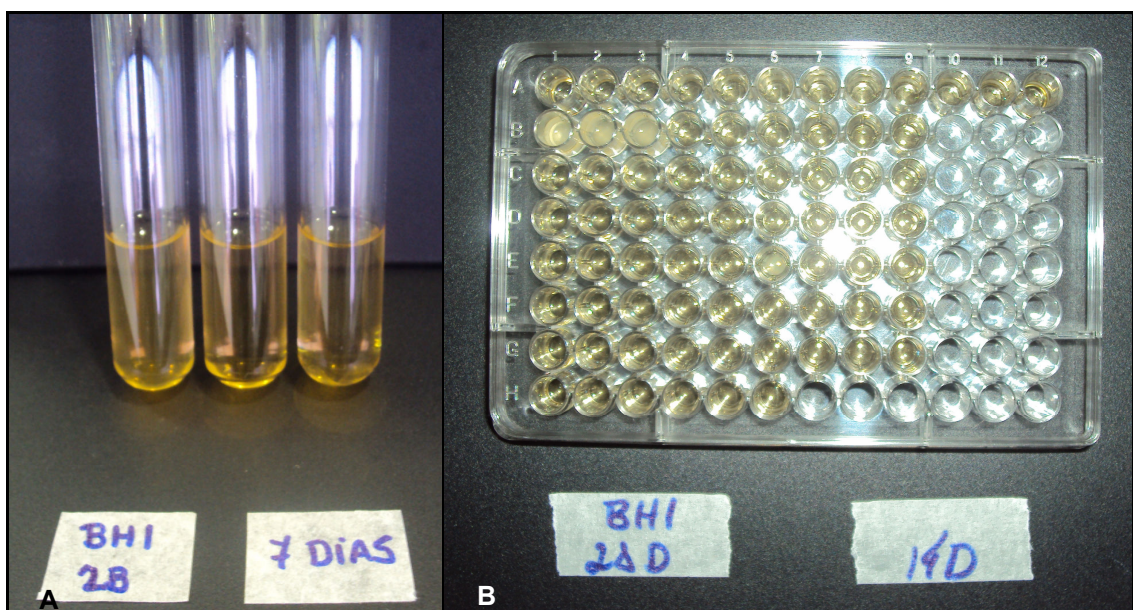


Figura 15 – A) fotografia dos tubos contendo o meio de cultura BHI isentos de contaminação após sete dias; B) fotografia da microplaca contendo o meio de cultura BHI isenta de contaminação após 14 e 28 dias.

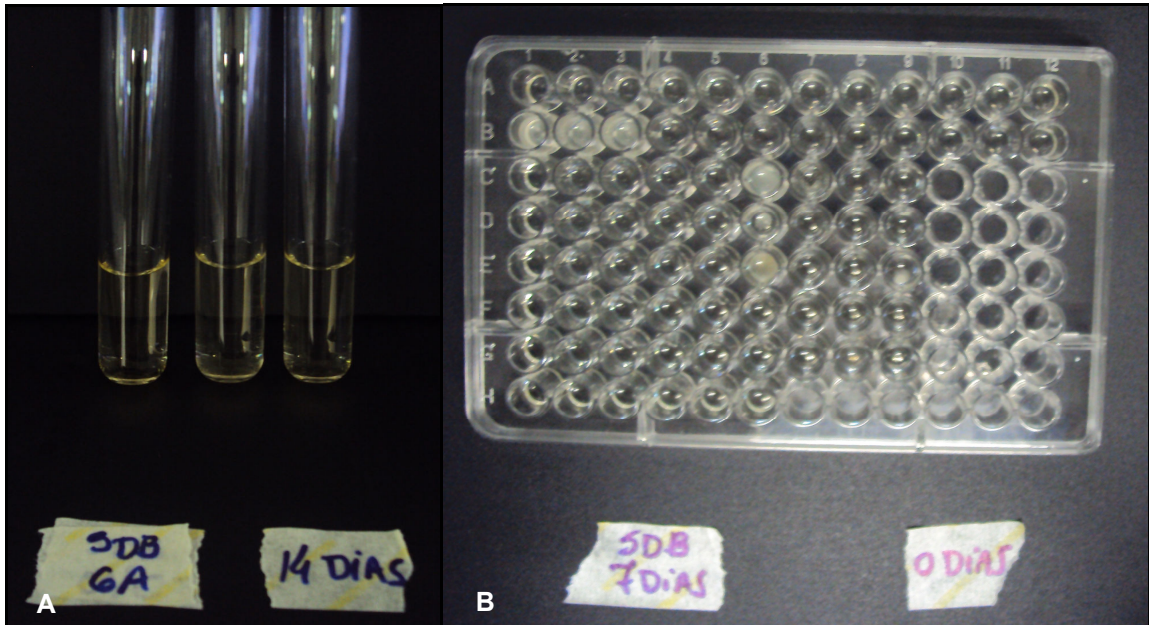


Figura 16 – A) fotografia dos tubos contendo o meio de cultura SDBI isentos de contaminação após 14 dias; B) fotografia da microplaca contendo o meio de cultura BHI isenta de contaminação no tempo “0” e após sete dias.

Os cimentos endodônticos testados, em triplicata, não apresentaram crescimento de bactérias e/ou fungos no momento do rompimento do laque (Tabela 2) e após sete, 14 e 28 dias (Tabelas 3, 4 e 5).

Tabela 2 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, no tempo “0”.

AMOSTRA	TUBOS			MICROPLACA		
	TSB	BHI	SDB	TSB	BHI	SDB
1A	---	---	---	---	---	---
1B	---	---	---	---	---	---
1C	---	---	---	---	---	---
2A	---	---	---	---	---	---
2B	---	---	---	---	---	---
2C	---	---	---	---	---	---
3A	---	---	---	---	---	---
3B	---	---	---	---	---	---
3C	---	---	---	---	---	---
4A	---	---	---	---	---	---
4B	---	---	---	---	---	---
4C	---	---	---	---	---	---
5A	---	---	---	---	---	---
5B	---	---	---	---	---	---
5C	---	---	---	---	---	---
6A	---	---	---	---	---	---
6B	---	---	---	---	---	---
6C	---	---	---	---	---	---
C ⁺	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C ⁻	---	---	---	---	---	---

Tabela 3 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, após sete dias.

AMOSTRA	TUBOS			MICROPLACA		
	TSB	BHI	SDB	TSB	BHI	SDB
1A	---	---	---	---	---	---
1B	---	---	---	---	---	---
1C	---	---	---	---	---	---
2A	---	---	---	---	---	---
2B	---	---	---	---	---	---
2C	---	---	---	---	---	---
3A	---	---	---	---	---	---
3B	---	---	---	---	---	---
3C	---	---	---	---	---	---
4A	---	---	---	---	---	---
4B	---	---	---	---	---	---
4C	---	---	---	---	---	---
5A	---	---	---	---	---	---
5B	---	---	---	---	---	---
5C	---	---	---	---	---	---
6A	---	---	---	---	---	---
6B	---	---	---	---	---	---
6C	---	---	---	---	---	---
C ⁺	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C ⁻	---	---	---	---	---	---

Tabela 4 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, após 14 dias.

AMOSTRA	TUBOS			MICROPLACA		
	TSB	BHI	SDB	TSB	BHI	SDB
1A	---	---	---	---	---	---
1B	---	---	---	---	---	---
1C	---	---	---	---	---	---
2A	---	---	---	---	---	---
2B	---	---	---	---	---	---
2C	---	---	---	---	---	---
3A	---	---	---	---	---	---
3B	---	---	---	---	---	---
3C	---	---	---	---	---	---
4A	---	---	---	---	---	---
4B	---	---	---	---	---	---
4C	---	---	---	---	---	---
5A	---	---	---	---	---	---
5B	---	---	---	---	---	---
5C	---	---	---	---	---	---
6A	---	---	---	---	---	---
6B	---	---	---	---	---	---
6C	---	---	---	---	---	---
C ⁺	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C ⁻	---	---	---	---	---	---

Tabela 5 – Leitura dos cimentos testados, em triplicata, após 28 dias.

AMOSTRA	TUBOS			MICROPLACA		
	TSB	BHI	SDB	TSB	BHI	SDB
1A	---	---	---	---	---	---
1B	---	---	---	---	---	---
1C	---	---	---	---	---	---
2A	---	---	---	---	---	---
2B	---	---	---	---	---	---
2C	---	---	---	---	---	---
3A	---	---	---	---	---	---
3B	---	---	---	---	---	---
3C	---	---	---	---	---	---
4A	---	---	---	---	---	---
4B	---	---	---	---	---	---
4C	---	---	---	---	---	---
5A	---	---	---	---	---	---
5B	---	---	---	---	---	---
5C	---	---	---	---	---	---
6A	---	---	---	---	---	---
6B	---	---	---	---	---	---
6C	---	---	---	---	---	---
C ⁺	+++	+++	+++	+++	+++	+++
C ⁻	---	---	---	---	---	---

6 DISCUSSÃO

Uma vez que cimentos endodônticos com diversas fórmulas encontram-se disponíveis no mercado, tais como cimento à base de óxido de zinco e eugenol (OZE), à base de resina epóxica, de hidróxido de cálcio [Ca(OH)₂] e cimentos com e sem adições de paraformaldeído (LAI et al., 2001), pesquisas têm sido realizadas, tanto no que concerne às propriedades biológicas e antibacterianas, quanto às propriedades físico-químicas, visando a obtenção de um cimento obturador ideal.

É consenso entre os autores pesquisados, que o cimento endodôntico além de ser biocompatível, deve possuir atividade antimicrobiana para inibir e/ou eliminar os microrganismos que tenham sobrevivido ao preparo químico-mecânico. Nesse contexto, este estudo buscou verificar a eficácia dos cimentos EndoFill[®], FillCanal[®], Sealer 26[®], AH Plus[®], Sealapex[®] e MTA Fillapex[®] quanto ao crescimento de microrganismos em meios seletivos de cultura nos tempos “0”, sete, 14 e 28 dias, simulando ao que acontece clinicamente.

Os meios de cultura BHI, SDB, TSB utilizados neste estudo suportam o metabolismo de microrganismos com diferentes exigências nutritivas. Por este motivo, foram empregados, sendo adequados à sobrevivência e multiplicação de microrganismos.

A solução tensoativa a 2% (dimetilsulfóxido – *tween* 80, 1:1 v/v) foi utilizada por promover a redução da tensão interfacial entre os componentes das formulações dos cimentos, permitindo sua solubilização e facilitando, dessa forma, a dispersão dos mesmos nos meios de culturas.

O ambiente aeróbio foi escolhido, uma vez que numerosas espécies de microrganismos podem sobreviver na presença de oxigênio. Além disso, esperou-se 48 horas para a análise dos resultados para as bactérias *S. aureus* e 120 horas para o fungo *C. albicans* por ser o tempo necessário para que ocorra a proliferação desses microrganismos.

A capacidade antimicrobiana de cada cimento foi verificada pela presença de turbidez do meio acrescido ao cimento, após manipulação conforme recomendações do fabricante e dos constituintes dos mesmos.

Avaliando o cimento Sealer 26[®], assim como Rickert[®], N-Rickert[®], Cruz et al. (2001) concluíram que os três cimentos apresentaram halos de inibição de crescimento para todas as bactérias testadas (*S. aureus*, *S. mutans*, *Streptococcus salivarius*, *C. albicans* e microrganismos bucais coletados do sulco gengival de pacientes com periodontite crônica), sendo que o Sealer 26[®] inibiu mais o crescimento dos microrganismos bucais e *S. salivarius*. Já no estudo de Araújo (2005), o Sealer 26[®] foi o cimento que apresentou os maiores níveis de aderência de *E. faecalis* em sua superfície, seguido pelo Sealapex[®], AH Plus[®], N-Riquert[®] e Pulp Canal Sealer[®]. Nesta pesquisa, os cimentos Sealapex[®] e AH Plus[®] inibiram o crescimento de microrganismos, corroborando com os achados de Cruz et al. (2001), e contrariando os resultados obtidos por Araújo (2005). Desta forma, acredita-se que, testes microbiológicos utilizando diferentes metodologias possam interferir nos resultados conforme descrito por Çobankara et al. (2004).

Kayaoglu et al. (2005), investigando a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos MCS Canal Sealer[®], AH Plus[®], Cimento Grossman[®], Sealapex[®] e Apexit[®] frente ao *E. faecalis*, observaram que os cimentos MCS[®], AH Plus[®] e Grossman[®] foram eficazes na redução da CFU de *E. faecalis*, quer no contato direto ou quando restringido por uma membrana-filtro, o que não ocorreu com o cimento Sealapex[®]. Em contrapartida, no estudo de Bodrumlu e Semiz (2006), o cimento Sealapex[®] apresentou ligeira atividade antimicrobiana, sendo mais efetivo do que os cimentos Diaket[®], Epiphany[®] e AH 26[®]. Por sua vez, Yücel et al. (2006), verificaram que o cimento Sealapex[®] não apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação aos cimentos AH Plus[®], AH 26[®] e Ketac-Endo[®], no qual nenhum cimento foi capaz de impedir a penetração bacteriana após obturação. Nesta pesquisa, os cimentos Sealapex[®] e AH Plus[®] não permitiram o crescimento de microrganismos. Nesse caso, acredita-se que a membrana-filtro utilizada por Kayaoglu et al. (2005), pode restringir o contato entre o cimento Sealapex[®] e o meio de cultura utilizado.

No estudo de Sipert et al. (2005), que avaliou a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos FillCanal[®], Sealapex[®], MTA[®], cimento Portland[®] e EndoRez[®] frente aos microrganismos *E. faecalis*, *E. coli*, *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, apesar de os cimentos FillCanal[®], Sealapex[®], MTA[®] e Portland[®] terem apresentado evidências de inibição, a cepa de

E. coli não foi inibida pelo MTA[®] e cimento Portland[®], enquanto FillCanal[®] e Sealapex[®] inibiram o crescimento de todas as cepas testadas. Miyagak et al. (2006), também não observaram atividade antimicrobiana para os cimentos Sealapex[®], MTA[®] e Portland[®], sendo que o microrganismo *E. faecalis* foi resistente a todos os cimentos testados. Neste estudo, os cimentos FillCanal[®], Sealapex[®] e o MTA Fillapex[®], não apresentaram crescimento de bactérias e fungos.

Leonardi et al. (2009) concluíram que os cimentos endodônticos Endofill[®], Sealer 26[®], AH Plus[®] e Acroseal[®] apresentaram atividade antimicrobiana contra os microrganismos *E. coli*, *E. faecalis*, *Bacillus cereus* e *S. aureus*, sendo que o AH Plus[®] e o EndoFill[®] foram os que mostraram maior poder antimicrobiano. Os resultados deste estudo mostraram que, os cimentos Endofill[®], Sealer 26[®] e AH Plus[®], também apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *C. albicans*. Já no estudo de Eldeniz et al. (2006), enquanto no teste de difusão em Ágar os cimentos EndoREZ[®], Apexit[®] e RoekoSeal[®] não mostraram atividade antibacteriana, no teste de contato direto o AH 26[®] e Sultan[®] foram potentes inibidores do crescimento bacteriano. Assim, quando Fuss et al. (2000) utilizaram esses mesmos testes, puderam observar que as quatro consistências clinicamente aceitáveis pelos fabricantes dos cimentos endodônticos AH 26[®], Roth[®] e CRCS[®] influenciaram nas propriedades antimicrobianas dos mesmos, onde o AH 26[®] de consistência mais firme não inibiu o crescimento bacteriano das amostras de 24 horas e a consistência mais fluida do cimento Roth[®] mostrou maiores halos de inibição que a consistência firme. Os testes de difusão em Ágar e de contato direto utilizados neste estudo foram capazes de demonstrar visualmente, que não houve crescimento bacteriano nos cimentos testados.

Avaliando os efeitos antibacterianos do MTA[®] cinza e MTA[®] branco, Mohammadi, Modaresi e Yazdizadeh (2006) constataram sua eficácia (recém-manipulados e após 24 horas) contra a *C. albicans*, corroborando com esta pesquisa, onde os cimentos testados nos tempos “0” e após 24 horas, também foram eficazes contra o mesmo fungo. Já Asgary e Kamrani (2008), pesquisando os efeitos antibacterianos desses mesmos cimentos, em comparação ao Portland[®], Ca(OH)₂ e um novo cimento endodôntico (NEC), observaram que esses dois últimos apresentaram, significativamente, melhor efeito antibacteriano do que MTA[®] e Portland[®].

A eficácia antimicrobiana dos cimentos endodônticos varia de acordo com os testes utilizados, bem como a composição dos materiais testados e os tempos de teste podem afetar os resultados de estudos microbiológicos (ÇOBANKARA et al., 2004). Contudo, Mickel, Nguyen e Chogle (2003) não observaram diferença no tamanho dos halos de inibição dos cimentos Sealapex[®], Roth 811[®], Kerr Pulp Canal Sealer EWT[®] e AH Plus[®] sobre amostras de *E. faecalis* entre os períodos de 24 e 48 horas. Corroborando, o tempo de contato entre cimentos e microrganismos não foi determinante para a eficácia antimicrobiana no estudo de Pérez et al. (2008); assim como Asgary e Kamrani (2008), que também não constataram diferenças significativas entre os resultados de 24, 48 e 72 horas para cada cimento testado; no entanto, o efeito antibacteriano diminuiu na ordem dos 24, 48 e 72 horas, conforme o esperado, o que também ocorreu no estudo de Gomes et al. (2004a). Neste estudo, o tempo não interferiu no crescimento de microrganismos frente aos cimentos testados.

Em contrapartida, no estudo de Pizzo et al. (2006), a atividade antimicrobiana dos cimentos AH Plus[®], Endomethasone[®], Pulp Canal Sealer[®] e Vcanalare[®] frente ao *E. faecalis*, dependeu do intervalo de tempo entre a manipulação e dos testes. Todos os cimentos apresentam efeito bactericida quando recém-manipulados, mas só Vcanalare[®] prorrogou esse efeito até sete dias após a manipulação. Corroborando com esses achados, no estudo de Kaplan et al. (1999), que determinou o efeito antimicrobiano dos cimentos endodônticos Apexit[®], Endion[®], AH26[®], AH Plus[®], Procosol[®] e Ketac Endo[®] após dois, 20 e 40 dias, os efeitos inibitórios apresentaram-se distintos para cada tempo estudado, o que não correu com o cimento AH Plus[®] testado nesta pesquisa. Por sua vez, Zhang et al. (2009) concluíram que os cimentos endodônticos iRoot SP[®], AH Plus[®] e EndoRez[®] recém-manipulados eliminaram de forma eficaz o *E. faecalis*. Porém, iRoot SP[®] e EndoRez[®] continuaram eficazes para três e sete dias após sua manipulação, sendo que Sealapex[®] e EndoRez[®] foram os únicos cimentos a apresentar atividade antimicrobiana mesmo após sete dias de sua manipulação, o que também ocorreu com o cimento Sealapex[®] neste estudo, o qual obteve o mesmo resultado quanto ao crescimento bacteriano e ao tempo de estudo.

Analisando as propriedades antimicrobianas dos cimentos endodônticos EndoFill[®], Endomethasone[®], Endomethasone N[®], Sealer 26[®] e AH Plus[®], imediatamente, 24, 48 horas e sete dias após a manipulação, Gomes et al. (2004a)

concluíram que nenhum dos cimentos inibiu completamente o crescimento dos microrganismos *C. albicans*, *S. aureus*, contrário aos resultados obtidos neste estudo quanto aos cimentos EndoFill[®], Sealer 26[®] e AH Plus[®] no que se refere ao crescimento antimicrobiano e quanto aos tempos de análise.

Sagsen et al. (2009) concluíram que os cimentos contendo eugenol e resina epóxica seriam preferíveis devido ao seu efeito antibacteriano. Já Fuss, Weiss e Shalhav (1997) observaram, nas misturas de 24 horas, que o cimento Roth[®], contendo OZE, mostrou uma atividade antimicrobiana mais potente que os cimentos contendo Ca(OH)₂. Neste estudo, os cimentos à base de OZE e Ca(OH)₂, também foram eficazes quanto à atividade antimicrobiana.

Avaliando a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos AH Plus[®], Sealapex[®], Ketac-Endo[®] e Fill Canal[®], das pastas de Ca(OH)₂ Calen[®] e Calasept[®] e da pasta de OZE, Leonardo et al. (2000) constataram que todas as seis linhagens de bactérias (*Micrococcus luteus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *Escherichia coli* e *E. faecalis*) e uma linhagem isolada da saliva de um adulto foram inibidas por todos os materiais testados. Este fato pode ser observado nesta pesquisa, no que tange à linhagem de *S. aureus*, quanto ao crescimento bacteriano dos cimentos AH Plus[®], Sealapex[®] e Fill Canal[®]. No estudo de Tanomaru Filho et al. (2007), todos os cimentos endodônticos, cimentos à base de MTA[®] e cimento Portland[®] apresentaram atividade antimicrobiana, principalmente os cimentos endodônticos. Corroborando com esse achado, Sandini et al. (2004) constataram que os cimentos OZE, Endomethasone[®] e EndoFill[®] apresentaram atividade antimicrobiana em todos os tempos do experimento (imediate, 24 horas, 48 horas e sete dias), sendo que o cimento de OZE revelou um halo de inibição superior aos demais cimentos obturadores. Já no estudo de Siqueira Júnior et al. (2000), todos os cimentos endodônticos (Grossman[®], Sealer 26[®], AH Plus[®], ThermaSeal[®], Sealer Plus[®] e Kerr Pulp Canal Sealer EWT[®]) obtiveram ação antimicrobiana frente às bactérias utilizadas, levando-os a concluírem que estes cimentos têm o potencial de auxiliar no controle microbiano no sistema de canal radicular, o que pode ser verificado nesta pesquisa frente aos cimentos Sealer 26[®], AH Plus[®] e EndoFill[®].

Destarte, com base na metodologia apresentada nesta pesquisa, pode-se afirmar que os cimentos Fill Canal[®], EndoFill[®], Sealer 26[®], AH Plus[®], Sealapex[®] e MTA Fillapex[®] mostraram-se resistentes à contaminação oferecida pelo meio, o que

pode ser considerado um fator positivo frente aos requisitos à obtenção do sucesso do tratamento endodôntico. Todavia, esses resultados devem ser interpretados com cautela, uma vez que estudos utilizando outros testes microbiológicos com diferentes tipos de microrganismos poderiam levar a outras premissas.

7 CONCLUSÃO

Os cimentos endodônticos Fill Canal[®], EndoFill[®], Sealer 26[®], AH Plus[®], Sealapex[®] e MTA Fillapex[®] não apresentaram crescimento de bactérias e/ou fungos no momento do rompimento do lacre e após sete, 14 e 28 dias.

Pôde-se deduzir que os agentes antimicrobianos contidos na composição dos cimentos endodônticos testados apresentaram-se eficazes na inibição da contaminação por microrganismos.

REFERÊNCIAS¹

ADIB, V. et al. Cultivable microbial flora associated with persistent periapical disease and coronal leakage after root canal treatment: a preliminary study. **Int Endod J**, Oxford, v. 37, n. 8, p. 542-551, Aug. 2004.

ARAÚJO, S. V. **Aderência *in vitro* de *Enterococcus faecalis* na superfície de cimentos obturadores de canais radiculares**. Taubaté, 2005. 55 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Taubaté, Faculdade de Odontologia, 2005.

AL-HEZAIMI, K. et al. Antibacterial effect of two Mineral Trioxide Aggregate (MTA) preparations against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus sanguis in vitro*. **J Endod**, Baltimore, v. 32, n. 11, p. 1053-1056, Nov. 2006.

AL-HEZAIMI, K. et al. Effect of white-colored Mineral Trioxide Aggregate in different concentrations on *Candida albicans in vitro*. **J Endod**, Baltimore, v. 31, n. 9, p. 684-686, Sep. 2005.

ASGARY, S.; KAMRANI, F. A. Antibacterial effects of five different root canal sealing materials. **J Oral Sci**, Tokyo, v. 50, n. 4, p. 469-474, Dec. 2008.

BELTES, P. et al. *In vitro* evaluation of the cytotoxicity of calcium hydroxide-based root canal sealers. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 11, n. 5, p. 245-249, Apr. 1995.

BODRUMLU, E.; SEMIZ, M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. **J Can Dent Assoc**, Toronto, v. 72, n. 7, p. 637a,b,c, Sep. 2006.

CHAVEZ DE PAZ, L. E. et al. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. **Int Endod J**, Oxford, v. 36, n. 7, p. 500-508, July 2003.

CHAVEZ DE PAZ, L. E.; MOLANDER, A.; DAHLÉN, G. Gram-positive rods prevailing in teeth with periodontitis undergoing root canal treatment. **Int Endod J**, Oxford, v. 37, n. 9, p. 579-587, Sep. 2004.

¹ De acordo com NRB-6023, da Associação Brasileira de Normas Técnicas, agosto de 2002.

CHEUNG, G. S.; HO, M. W. Microbial flora of root canal-treated teeth with associated asymptomatic periapical radiolucent lesions. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 16, n. 6, p. 332-337, Dec. 2001.

ÇOBANKARA, F. K. et al. *In vitro* antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. **J Endod**, Baltimore, v. 30, n. 1, p. 57-60, Jan. 2004.

CRUZ, C. W. et al. Avaliação do efeito antibacteriano *in vitro* dos cimentos obturadores rickert, n-rickert e sealer 26. **Rev Biociênc**, Taubaté, v. 7, n. 1, p.49-53, jan./jun. 2001.

DAHLÉN, G. et al. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 15, n. 5, p. 309-312, Oct. 2000.

DE DEUS, G. et al. Penetração intratubular de cimentos endodônticos. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 332-336, dez. 2002.

DESAI, S.; CHANDLER, N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: A review. **J Endod**, Baltimore, v. 35, n. 4, p. 475-480, Apr. 2009.

DISTEL, J. W.; HATTON, J. F.; GILLESPIE, J. Biofilm formation in medicated root canals. **J Endod**, Baltimore, v. 28, n. 10, p. 689-693, Oct. 2002.

DUARTE, M. A. H. et al. Avaliação da contaminação do MTA Angelus e do cimento Portland. **J Bras Clin Odontol Integr**, Curitiba, v. 6, n. 32, p. 155-157, mar./abr. 2002.

DUARTE, M. A. H.; WECKWERTH, P. H.; MORAES, I. G. Análise da ação antimicrobiana de cimentos e pastas empregados na prática endodôntica. **Rev Odontol Univ São Paulo**, Bauru, v. 11, n. 4, p. 299-305, out./dez. 1997.

EGAN, M. W. et al. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. **Int Endod J**, Oxford, v. 35, n. 4, p. 321-329, Apr. 2002.

ELDENIZ, A. U. et al. Assessment of antibacterial activity of EndoREZ. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 102, n. 1, p. 119-126, July 2006.

ELDENIZ, A. U.; ORSTAVIK, D. A laboratory assessment of coronal bacterial leakage in root canals filled with new and conventional sealers. **Int Endod J**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 303–312, Apr. 2009.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 1, p. 3-9, jan./jun. 2000.

FERRARI, P. H. P.; CAI, S.; BOMBANA, A. C. Effect of endodontic procedures on *Enterococci*, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. **Int Endod J**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 372-380, June 2005.

FREIRE, M. C. M.; PATTUSSI, M. P. Tipos de estudo. In: ESTRELA, C. **Metodologia Científica, Ciência, Ensino, Pesquisa**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2005. cap. 10. p. 185-209.

FUSS, Z. et al. Effect of various mixing ratios on antibacterial properties and hardness of endodontic sealers. **J Endod**, Baltimore, v. 26, n. 9, p. 519-522, Sep. 2000.

FUSS, Z.; WEISS, E. I.; SHALHAV, M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis in vitro*. **Int Endod J**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 397-402, Nov. 1997.

GABARDO, M. C. L. et al. Microbiologia do insucesso do tratamento endodôntico. **Rev Gestão Saúde**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 11-17. 2009.

GLICKMAN, G. N.; WALTON, R. E. Obturação. In: TORABINEJAD, M.; WALTON, R. E. **Endodontia – Princípios e Prática**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 17. p. 298-322.

GOMES, B. P. F. A. et al. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 1, p. 30-35, jan./abr. 2004a.

_____. Microbiological examination of infected dental root canals. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 19, n. 2, p. 71-76, Apr. 2004b.

HANCOCK, H. H. et al. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a north american population. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 91, n. 5, p. 579-586, May 2001.

HOELSCHER, A. A.; BAHCALL, J. K.; MAKI, J. S. *In vitro* evaluation of the antimicrobial effects of a root canal sealer-antibiotic combination against *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, Baltimore, v. 32, n. 2, p. 145-147, Feb. 2006.

HOEN, M. M.; PINK, F. E. Contemporary endodontic retreatments: an analysis based on clinical treatment findings. **J Endod**, Baltimore, v. 28, n. 12, p. 834-836, Dec. 2002.

JOHNSON, W. T.; GUTMAN, J. L. Obturação do sistema de canais radiculares. In: COHEN, S., HARGREAVES, K.M. **Caminhos da Polpa**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. cap. 9, p. 358-399.

KAPLAN, A. E. et al. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an *in vitro* evaluation. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 42-45, Feb. 1999.

KAUFMAN, B. et al. *Enterococcus sp* in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. **J Endod**, Baltimore, v. 31, n. 12, p. 85-856, Dec. 2005.

KAYAOGLU, G. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 483-488, July 2005.

KISHEN, A. et al. An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticulates for root canal disinfection. **J Endod**, Baltimore, v. 34, n. 12, p.1515-1520, Dec. 2008.

KOKKAS, A. B. et al. The influence of the smear layer on dentinal tubules penetration depth by three different root canal sealers: an *in vitro* study. **J Endod**, Baltimore, v. 30, n. 2, p. 100-102, Feb. 2004.

KRETH, J. et al. The antimicrobial effect of silver ion impregnation into Endodontic Sealer against *Streptococcus mutans*. **Open Dent J**, Los Angeles, v. 2, p. 18-23, Feb. 2008.

LAI, C. C. et al. Antimicrobial activity of four root canal sealers against endodontic pathogens. **Clin Oral Investig**, Berlin, v. 5, n. 4, p. 236-239, Oct. 2001.

LEAL, J. M. Materiais obturadores de canais radiculares. In: LEONARDO, M. R.; LEAL, J. M. **Endodontia – Tratamento de Canais Radiculares**. São Paulo: Panamericana, 1998. cap. 26, p. 547-606.

LEONARDI, D. P. et al. Avaliação *in vitro* da ação antimicrobiana de alguns cimentos endodônticos. **Rev Sul-Bras Odontol**, Univille, v. 6, n. 4, p. 367-373, dez. 2009.

LEONARDO, M. R. et al. *In vitro* evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. **J Endod**, Baltimore, v. 26, n. 7, p. 391-394, July 2000.

MICKEL, A. K.; NGUYEN, T. H.; CHOGLE, S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, Baltimore, v. 29, n. 4, p. 257-258, Apr. 2003.

MIYAGAK, D. C. et al. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 20, n. 4, p. 303-306, out./dez. 2006.

MOHAMMADI, Z.; YAZDIZADEB, M. Evaluation of the antibacterial activity of new root canal sealers. **J Clin Dent**, Yardley, v.18, n. 3, p. 70-72, 2007.

MOHAMMADI, Z.; MODARESI, J.; YAZDIZADEH, M. Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. **Aust Endod J**, Sydney, v. 32, n. 3, p. 120-122, Dec. 2006.

NAIR, P. N. R. On the cause of persistent apical periodontitis; a review. **Int Endod J**, Oxford, v. 39, n. 4, p. 249-281, Apr. 2006.

ORTEGA CRUZ, H. F. **Avaliação in vitro da associação do efeito antimicrobiano do ozônio associado a veículos e curativos de demora em diferentes períodos de tempo de armazenagem**. Araraquara, 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, 2007.

PASQUALINI, D. et al. Microbial leakage of gutta-percha and Resilon™ root canal filling material: a comparative study using a new homogeneous assay for sequence detection. **J Biomater Appl**, Lancaster, v. 22, n. 1, p. 337-352, Jan. 2008.

PECIULIENE, V. et al. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously, root filled canals in a Lithuanian population. **J Endod**, Baltimore, v. 26, n. 10, p. 593-595, Oct. 2000.

_____. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. **Int Endod J**, Oxford, v. 34, n. 6, p. 429-434, Sep. 2001.

PÉREZ, S. B. et al. Endodontic microorganism susceptibility by direct contact test. **Acta Odontol Latinoam**, Buenos Aires, v. 21, n. 2, p.169-173, Dec. 2008.

PEZELJ-RIBARIC, S. et al. Influence of calcium hydroxide root-canal sealer on microbial growth *in vitro*. **Folia Microbiol**, Praha, v. 47, n. 4, p. 458-460, Aug. 2002.

PINHEIRO, C. R. et al. *In vitro* antimicrobial activity of acroseal, polifil and epiphany against *Enterococcus faecalis*. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 2, p. 107-111, 2009.

PINHEIRO, E. T. et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 1-11, Jan. 2003.

PIZZO, G. et al. *In vitro* antibacterial activity of endodontic sealers. **J Dent**, Guildford, v. 34, n. 1, p. 35-40, Jan. 2006.

RIBEIRO, C. S. et al. Comparative evaluation of antimicrobial action of MTA, calcium hydroxide and Portland cement. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 14, n. 5, p. 330-333, out. 2006.

RÔÇAS, I. N. et al. Polymerase Chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a south Korean population. **J Endod**, Baltimore, v. 30, n.7, p. 504-508, July 2004.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; SANTOS, K. R. N. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J Endod**, Baltimore, v. 30, n. 5, p. 315-320, May 2004.

ROLPH, H. J. et al. Molecular identification of microorganisms from endodontic infections. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 39, n. 9, p. 3282-3289, Sep. 2001.

SAGSEN, B. et al. *In vitro* pharmacodynamic activities of root canal sealers on *Enterococcus faecalis*. **J Contemp Dent Pract**, Cincinnati, v. 10, n. 3, p. 35-42, May 2009.

SALEH, I. M, et al. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers *in vitro*. **Int Endod J**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 193-198, Mar. 2004.

SANDINI, V. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos à base de óxido de zinco e eugenol. **J Bras Endodontia**, Curitiba, v. 5, n. 17, p. 115-120, abr./jun. 2004.

SAVIOLI, R. N. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de cada um dos componentes do cimento de Grossman. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 20, n 2, p. 127-131, Apr./June 2006.

SCARPARO, R. K.; GRECCA, F. S.; FACHIN, E. V. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. **J Endod**, Baltimore, v. 35, n. 2, p. 229-232, Feb. 2009.

SEDGLEY, C. M. The influence of root canal sealer on extended intracanal survival of *Enterococcus faecalis* with and without gelatinase production ability in obturated root canals. **J Endod**, Baltimore, v. 33, n. 5, p. 561-566, May 2007.

SEDGLEY, C. M.; LENNAN, S. L.; APPELBE, O. K. Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals *ex vivo*. **Int Endod J**, Oxford, v. 38, n. 10, p. 735-742, Oct. 2005.

SHIPPER, G. et al. Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or resilon. **J Endod**, Baltimore, v. 31, n.2, p. 91-96, Feb. 2005.

SIPERT, C. R. et al. *In vitro* antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **Int Endod J**, Oxford, v. 38, n. 8, p. 539-543, Aug. 2005.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. et al. *Actinomyces* Species, *Streptococci*, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections **J Endod**, Baltimore, v.28, n.3, p.168-171, Mar. 2002.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 97, n. 1, p. 85-94, Jan. 2004.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. F.; RÔÇAS, I. N.; LOPES, H. P. Materiais obturadores. In: LOPEZ, H. P.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. **Endodontia – Biologia e Técnica**. Rio de Janeiro: Medsi, 1999. cap. 20. p. 427-450.

SLUTZKY-GOLDBERG, I. et al. Antibacterial properties of four endodontic sealers. **J Endod**, Baltimore, v.34, n. 6, p. 735-738, June 2008.

SMADI, L.; MAHAFAZH, A.; KHRAISAT, A. An *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of nine root canal sealers. **J Contemp Dent Pract**, Cincinnati, v. 9, n. 5, p. 60-67, July 2008.

SUBRAMANIAN, K.; MICKEL, A. K. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. **J Endod**, Baltimore, v. 35, n. 7, p. 950-957, July 2009.

SUNDE, P. T. et al. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. **J Endod**, Baltimore, v. 28, n. 4, p. 304-310, Apr. 2002.

STUART, C. H. et al. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **J Endod**, Baltimore, v. 32, n. 2, p. 93-98, Feb. 2006.

SUNDQVIST, G. et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 85, n.1, p. 86-93, Jan. 1998.

TABRIZIZADEH, M.; MOHAMMADI, Z. *In vitro* evaluation of antibacterial activity of root canal sealers. **J Clin Dent**, Yardley, v.16, n. 4, p. 114-116, 2005.

TANOMARU, J. M. et al. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. **Acta Odontol Latinoam**, Buenos Aires, v. 21, n. 2, p. 147-151, 2008.

TANOMARU FILHO, M. et al. *In vitro* antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. **J Appl Oral Sci**, Tokyo, v. 49, n. 1, p. 41-45, Mar. 2007.

YASUDA, Y.; KAMAGUCHI, A.; SAITO, T. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of a new resin-based endodontic sealer against endodontic pathogens. **J Appl Oral Sci**, Tokyo, v. 50, n. 3, p. 309-313, Sep. 2008.

YÜCEL, A. Ç. et al. Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. **J Endod**, Baltimore, v. 32, n. 9, p. 890-893, Sep. 2006.

WALTON, R. E.; JOHNSON, W. T. Obturação. In: WALTON, R. E.; TORABINEJAD, M. **Princípios e Prática em Endodontia**. São Paulo: Santos, 1998, cap. 6. p. 234-259.

ZEHNDER, M.; GUGGENHEIM, B. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. **Int Endod J**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 277-287, Feb. 2009.

ZHANG, H. et al. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, Baltimore, v. 35, n. 7, p. 1051-1055, July 2009.