

UNICAMP

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

JOSE ASSIS PEDROSO

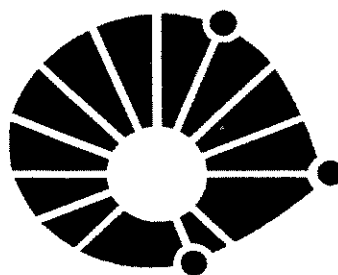
CIRURGIÃO-DENTISTA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Tese apresentada ao Curso de Clínica Odontológica,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do Título de
Doutor em Clínica Odontológica - Área de Endodontia

PIRACICABA

- 2000 -



UNICAMP

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

JOSE ASSIS PEDROSO

CIRURGIÃO-DENTISTA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Tese apresentada ao Curso de Clínica Odontológica,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Doutor
em Clínica Odontológica – Área de Endodontia.

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CPG, 09/05/01
Assinatura do Orientador

Orientadora: Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Banca Examinadora: Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Prof. Dr. Marco Antônio Hungaro Duarte

Prof. Dr. Mitsuru Ogata

Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho

Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz

PIRACICABA

- 2000 -

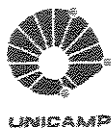
P343a Pedroso, Jose Assis.
Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos. / Jose Assis Pedroso. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2000. xxvi, 176p. : il.

Orientador : Profª Drª Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Microrganismos. 2. Endodontia. 3. *Candida albicans*. 4. Microbiologia. 5. Estreptococo. I. Gomes, Brenda Paula Figueiredo de Almeida. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 12 de Dezembro de 2000, considerou o candidato JOSE ASSIS PEDROSO aprovado.

1. Profa. Dra. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

2. Prof. Dr. MARCO ANTONIO HUMGARO DUARTE

3. Prof. Dr. MITSURU OGATA

4. Prof. Dr. FRANCISCO JOSE DE SOUZA FILHO

5. Prof. Dr. CAIO CEZAR RANDI FERRAZ

A minha esposa, **Isaura**, pelo amor, companheirismo, paciência e inspiração e as minhas filhas, **Andresa** e **Veronica**, pelos momentos em que suportaram a distância com paciência, dando-me ânimo para seguir adiante, de todo o meu coração.

Dedico de maneira especial,
este trabalho.

Agradecimentos

AGRADEÇO À DEUS,

"O verbo que se fez carne e habitou entre nós, cheio de graça e de verdade, e vimos a sua glória, glória como do unigênito do Pai". (Jo 1:14)

"A Ele que fez todas as coisas e sem ele nada do que foi feito se fez." (Jo.1.3)

Rasgou-se o Verbo, desnudou-se o coração de Deus. Hoje, temos pleno conhecimento de seu amor por nós.

À Ele que ilumina o nosso caminho.

À minha orientadora, Profa. Dra. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES, pela participação ativa e direta neste grande passo da minha vida científica, pelos exemplos, competência e dedicação profissional, meu eterno agradecimento.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum, pelo apoio necessário pela acolhida carinhosa.

À Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury, coordenadora do curso de pós-graduação da FOP/UNICAMP, pela dedicação e atenção dispensada sempre que solicitada.

À Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP, pelo apoio recebido.

Ao Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho, responsável pela área de Endodontia da FOP/UNICAMP, pela amizade, confiança e exemplo.

Ao Prof. Dr. Luiz Valdrighi, Prof. Dr. Alexandre Zaia, Prof. Dr. Fabrício Teixeira e Prof. Caio Cezar Randi Ferraz , pela amizade, companheirismo, e apoio nesta etapa de minha vida.

Ao Prof. Dr. Carlos Wagner de Araujo Werner, Diretor da Faculdade de Odontologia de Lins-UNIMEP, pela amizade e auxílio dispensada à mim sempre que solicitado.

Aos estimados amigos e colegas do Curso de Pós-Graduação em Endodontia João Eduardo Gomes Filho, Gerson Hiroshi Yoshinari, João Odilo Velasques, Eudes Gondim Jr e Eneida Santos de Araujo, pela demonstração constante de companheirismo e colaboração inestimável.

Aos amigos da pós-graduação do Curso de Pós-Graduação em Endodontia do ano de 1999, Ronaldo Rodrigues, Cícero Gadê Neto, Ericka Pinheiro, Soraia Carvalho, Noboru Imura, Tetis Sauáia e Ezilmara de Sousa, pela amizade.

Aos funcionários da Disciplina de Endodontia Denize L. de Pinho, Maria Aparecida Buscariol, Rubens M. Payão e Adailton dos S. Lima, pela convivência e pelo auxílio em meus trabalhos diários.

Às estagiárias do laboratório de Microbiologia da área de Endodontia, Keli Cristina de Carvalho, Patrícia Maria Maccagnan, Morgana Eli Vianna e Fabiana Danelon Gardin, pela amizade e auxílio sempre que necessário.

À FAPESP pelo apoio financeiro, possibilitando o desenvolvimento deste trabalho.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO	Página
I. TABELAS	1
II. FIGURAS	9
III. QUADROS	11
RESUMO	13
1 – INTRODUÇÃO	15
2 - REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1-Grupos Bacterianos	21
2.2.-Vias de acesso dos microrganismos aos canais radiculares	26
2.3 -Cimentos endodônticos	38
2.3.1.-Atividade antimicrobiana dos cimentos	52
3 – PROPOSIÇÃO	53
4 – MATERIAIS E MÉTODOS	65
4.1-Materiais	65
4.1.1.-Cimentos	65
4.1.1.1.-Endo-Fill	65
4.1.1.2.-Endométhasone	65
4.1.1.3.-Sealer 26	65
4.1.1.4.-AH-Plus	65

4.1.2.- Microrganismos	65
4.1.2.1.-Leveduras	65
4.1.2.2.-Anaeróbios facultativos	65
4.1.3.- Meios de Cultura	66
4.2.- Métodos	66
4.2.1.-Método de difusão em ágar	66
4.2.1.1.-Preparação do inóculo	66
4.2.1.2.-Preparação das camadas de ágar	67
4.2.1.3.-Preparo dos cimentos a serem testados	67
4.2.1.4.-Colocação dos tubos de inox sobre a superfície do ágar	68
4.2.1.5.-Incubação	69
4.2.1.6.-Leitura dos halos de inibição	69
4.2.2.-Método do contato direto em meio líquido, através da observação da curva de crescimento microbiano	70
4.2.2.1.-Preparo das suspensões microbianas	70
4.2.2.2.-Preparo dos cimentos	71
4.2.2.3.-Leitura da curva de crescimento em BHI líquido	71
4.2.2.4.-Leitura do tempo de dissolução do conjunto: Cimento e BHI	72
4.2.2.5.-Observação do crescimento microbiano em placas de BHI-Sangue	73
4.2.2.6.-Análise Estatística	73

5 – RESULTADOS	75
5.1. Métodos de difusão em ágar	75
5.1.1. Cimentos X microrganismos	75
5.1.2. Microrganismos X cimentos	75
5.2. Método do contato direto em meio líquido	78
5.2.1. Cimento X microrganismos	78
5.2.2. Microrganismos X cimentos	82
5.2.3. Cimento X tempo de crescimento microbiano	85
5.2.4. Tempo de crescimento microbiano X cimentos	87
5.2.5. Microrganismos X tempo de crescimento – sem cimento	87
5.2.6. Cimento X tempo de crescimento microbiano	89
5.2.7. Tempo após manipulação X microrganismos	91
5.2.8. Microrganismos X tempo de manipulação	93
5.2.9. Dissolução dos cimentos	96
5.2.10. Crescimento microbiano em placas de BHI-ágar-sangue	97
5.3. Método de difusão no ágar X método do contato direto	102
6. DISCUSSÃO	105
6.1. Método de difusão em ágar	105
6.2. Método do contato direto em meio líquido para observação da curva de crescimento microbiano	109
6.3. Método de difusão em ágar x método de contato direto	110

7 – CONCLUSÕES	113
SUMMARY	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117
ANEXOS	135
Anexo 1 – Cimentos Testados	135
Anexo 2 – Meios de Cultura	136
Anexo 3 - Atividade antimicrobiana dos cimentos testados	143

I. TABELAS

TABELA 1. BACTÉRIAS COMUMENTE ISOLADAS EM POLPAS NECRÓTICAS INFECTADAS	25
TABELA 3.1.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDO-FILL EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS.	143
TABELA 3.1.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDOMÉTHASONE EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS.	144
TABELA 3.1.3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO SEALER 26 EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS.	145
TABELA 3.1.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO AH -PLUS EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS.	146

TABELA 3.2.1.1.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO AH -PLUS CONTRA <i>C. ALBICANS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	147
TABELA 3.2.1.1.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO AH -PLUS CONTRA <i>A. NAESLUNDII</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	148
TABELA 3.2.1.1.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO AH -PLUS CONTRA <i>E. FAECALIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	149
TABELA 3.2.1.1.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO AH -PLUS CONTRA <i>S. AUREUS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	150
TABELA 3.2.1.1.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO AH -PLUS CONTRA <i>S. SANGUIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	151
TABELA 3.2.1.2.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO SEALER 26 CONTRA <i>C. ALBICANS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	152
TABELA 3.2.1.2.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO SEALER 26 CONTRA <i>A. NAESLUNDII</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	153

TABELA 3.2.1.2.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO SEALER 26 CONTRA <i>E. FAECALIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	154
TABELA 3.2.1.2.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO SEALER 26 CONTRA <i>S. AUREUS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	155
TABELA 3.2.1.2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO SEALER 26 CONTRA <i>S. SANGUIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	156
TABELA 3.2.1.3.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDOMÉTHASONE CONTRA <i>C.ALBICANS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	157
TABELA 3.2.1.3.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDOMÉTHASONE CONTRA <i>“ NAESLUNDII</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	158
TABELA 3.2.1.3.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDOMÉTHASONE CONTRA <i>E. FAECALIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	159
TABELA 3.2.1.3.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDOMÉTHASONE CONTRA <i>S. AUREUS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	160

TABELA 3.2.1.3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDOMÉTHASONE CONTRA <i>S. SANGUIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	161
TABELA 3.2.1.4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDO-FILL CONTRA <i>C.ALBICANS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	162
TABELA 3.2.1.4.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDO-FILL CONTRA <i>A. NAESLUNDII</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	163
TABELA 3.2.1.4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDO-FILL CONTRA <i>E. FAECALIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	164
TABELA 3.2.1.4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDO-FILL CONTRA <i>S. AUREUS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	165
TABELA 3.2.1.4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO ENDODÔNTICO ENDO-FILL CONTRA <i>S. SANGUIS</i> NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	166
TABELA 3.2.2.1. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO ENDO-FILL NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	167
TABELA 3.2.2.2. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO ENDOMÉTHASONE NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	168

TABELA 3.2.2.3. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO SEALER 26 NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	169
TABELA 3.2.2.4. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO AH-PLUS NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO	170
TABELA 5.2.1.1. TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS TESTADOS EM RELAÇÃO AO <i>ACTINOMYCES NAESLUNDII</i>	79
TABELA 5.2.1.2. TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS TESTADOS EM RELAÇÃO AO <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	79
TABELA 5.2.1.3. TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS TESTADOS EM RELAÇÃO AO <i>ENTEROCOCCUS FAECALIS</i>	80
TABELA 5.2.1.4. TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS TESTADOS EM RELAÇÃO AO <i>STREPTOCOCCUS SANGUIS</i>	80
TABELA 5.2.1.5. TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS TESTADOS EM RELAÇÃO A <i>CANDIDA ALBICANS</i>	80
TABELA 5.2.2.1. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO PARA AH-PLUS	83

TABELA 5.2.2.2. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO PARA SEALER 26	83
TABELA 5.2.2.3. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO PARA ENDOMÉTHASONE	83
TABELA 5.2.2.4. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO PARA ENDO-FILL	84
TABELA 5.2.3.1. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO MICROBIANO NO PERÍODO DE 1 HORA	85
TABELA 5.2.3.2. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO MICROBIANO NO PERÍODO DE 9 HORAS	86
TABELA 5.2.3.3. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO MICROBIANO NO PERÍODO DE 18 HORAS	86
TABELA 5.2.5.1. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO NO TEMPO DE 1 HORA	88
TABELA 5.2.5.2. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO NO TEMPO DE 9 HORAS	88
TABELA 5.2.5.3. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE CRESCIMENTO MICROBIANO NO TEMPO DE 18 HORAS	88
TABELA 5.2.6.1. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NO TEMPO IMEDIATO	89

TABELA 5.2.6.2. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NO TEMPO DE 24 HORAS APÓS MANIPULAÇÃO	89
TABELA 5.2.6.3. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NO TEMPO DE 48 HORAS APÓS MANIPULAÇÃO	90
TABELA 5.2.6.4. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NO TEMPO DE 7 DIAS APÓS MANIPULAÇÃO	90
TABELA 5.2.7.1. TESTE UNILATERAL DE DUNNETT PARA TRANSMITÂNCIA DE AH-PLUS EM RELAÇÃO AO TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO	91
TABELA 5.2.7.2. TESTE UNILATERAL DE DUNNETT PARA TRANSMITÂNCIA DE SEALER 26 EM RELAÇÃO AO TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO	91
TABELA 5.2.7.3. TESTE UNILATERAL DE DUNNETT PARA TRANSMITÂNCIA DE ENDOMETHASONE EM RELAÇÃO AO TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO	92
TABELA 5.2.7.4. TESTE UNILATERAL DE DUNNETT PARA TRANSMITÂNCIA DE ENDO-FILL EM RELAÇÃO AO TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO	92
TABELA 5.2.8.1. TESTE DE TUKEY PARA MICRORGANISMOS EM TEMPO IMEDIATO	94

TABELA 5.2.8.2. TESTE DE TUKEY PARA MICRORGANISMOS EM TEMPO DE 24 HORAS APÓS MANIPULAÇÃO	94
TABELA 5.2.8.3. TESTE DE TUKEY PARA MICRORGANISMOS EM TEMPO DE 48 HORAS APÓS MANIPULAÇÃO	94
TABELA 5.2.8.4. TESTE DE TUKEY PARA MICRORGANISMOS EM TEMPO 7 DIAS APÓS MANIPULAÇÃO	95
TABELA 5.2.9.1. TESTE DE TUKEY PARA MÉDIA DE DISSOLUÇÃO DOS CIMENTOS	96
TABELA 5.2.10.1. TESTE DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI - ÁGAR – SANGUE NO CIMENTO ENDO-FILL X MICRORGANISMOS.	98
TABELA 5.2.10.2. TESTE DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI ÁGAR-SANGUE NO CIMENTO ENDOMÉTHASONE X MICRORGANISMOS.	99
TABELA 5.2.10.3. TESTE DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI-ÁGAR -SANGUE NO CIMENTO SEALER 26 X MICRORGANISMOS.	100
TABELA 5.2.10.4. TESTE DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI - ÁGAR -SANGUE NO CIMENTO AH-PLUS X MICRORGANISMOS.	101

II. FIGURAS

FIGURA 3.2.3.1 - TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO EM RELAÇÃO AO CIMENTO ENDO-FILL (PONTO MÍNIMO = 15,0)	171
FIGURA 3.2.3.2 - TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO EM RELAÇÃO AO CIMENTO ENDOMETHASONE (PONTO MÍNIMO = 16,0)	171
FIGURA 3.2.3.3 - TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO EM RELAÇÃO AO CIMENTO SEALER 26 (PONTO MÍNIMO = 15,0)	172
FIGURA 3.2.3.4 - TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO EM RELAÇÃO AO CIMENTO AH PLUS (PONTO MÍNIMO = 17,0)	172
FIGURA 3.2.4.1 - TEMPO DE CRESCIMENTO PARA O CIMENTO IMEDIATO NAS 18 HORAS (PONTO MÍNIMO=15H)	173
FIGURA 3.2.4.2 - TEMPO DE CRESCIMENTO PARA O CIMENTO DE 24H (APÓS MANIPULAÇÃO)NAS 18 HORAS (PONTO MÍNIMO=16H)	174
FIGURA 3.2.4.3 - TEMPO DE CRESCIMENTO PARA O CIMENTO DE 48H (APÓS MANIPULAÇÃO)NAS 18 HORAS (PONTO MÍNIMO=16H)	174
FIGURA 3.2.4.4 - TEMPO DE CRESCIMENTO PARA O CIMENTO DE 7 DIAS (APÓS MANIPULAÇÃO)NAS 18 HORAS (PONTO MÍNIMO=15,5)	175
FIGURA 3.2.5.1 - TEMPO DE DISSOLUÇÃO DOS CIMENTOS	176
FIGURA 4.1. A- SUSPENSÃO MICROBIANA B-C- SEMEADURA EM PROFUNDIDA D-COLOCAÇÃO DE CILINDROS DE AÇO INOX SOBRE A CAMADA “SEED” E- INCUBAÇÃO.	69

FIGURA 4.2. A- HALOS DE INIBIÇÃO B- INIBIÇÃO POR CONTATO 70
DIRETO (SETA) INDICANDO TUBO DE INOX DESLOCADO COM
ESTA FINALIDADE.

FIGURA 4.3. A- CIMENTO B- PLACA DE SILICONE C- PLACA DE 72
SILICONE PREENCHIDA COM CIMENTO D- CORPO DE PROVA
RETIRADO DA PLACA E- BHI + INÓCULO + CIMENTO F-
LEITURA EM ESPECTOFOTÔMETRO.

III QUADROS

QUADRO 5.1.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS (MÉDIA DAS ZONAS DE INIBIÇÃO EM MM) – <i>MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR</i>	76
QUADRO 5.1.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS (MÉDIA DOS 4 TEMPOS DAS ZONAS DE INIBIÇÃO EM MM) – <i>MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR</i>	77
QUADRO 5.2.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS EM VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS (MÉDIA DOS 4 TEMPOS DAS ZONAS DE INIBIÇÃO EM MM) – <i>MÉTODO DE CONTATO DIRETO</i>	81
QUADRO 5.3.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS X MICRORGANISMOS AERÓBIOS E FACULTATIVOS. – <i>MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR X CONTATO DIRETO</i>	83

RESUMO

A atividade antimicrobiana é uma importante propriedade de um cimento endodôntico quando da obturação de canais radiculares. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades antimicrobianas desses cimentos. Para tanto foram utilizados quatro cimentos endodônticos: Endo-Fill, Endométhasone, Sealer 26 e AH Plus, nos seguintes tempos após manipulação: imediatamente, 24 horas, 48 horas e 7 dias, e cinco microrganismos: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces naeshlundii*. Foram empregados dois métodos: a) difusão em ágar e b) contato direto através de observação da curva de crescimento dos microrganismos em meio líquido. Quanto ao método de difusão em ágar, obteve-se os seguintes resultados: 1) Os cimentos endodônticos testados apresentaram variações de atividade antimicrobiana, sendo esta, de um modo geral, mais pronunciada nos estágios iniciais de manipulação; 2) Todos os cimentos tiveram ação antimicrobiana pelo menos por contato direto; 3) O cimento Endo-Fill apresentou maiores halos de inibição durante os períodos experimentais, principalmente em relação à *C. albicans* e *A. naeshlundii*, sendo que para *S. sanguis* somente até 48 horas após manipulação do cimento. Houve ação antimicrobiana somente por contato direto frente a *E. faecalis* e *S. aureus*; 4) O cimento AH Plus para a *C. albicans* apresentou atividade antimicrobiana até 48 horas após manipulação do cimento; 5) Endométhasone mostrou atividade antimicrobiana apenas imediatamente após o seu preparo para todos os microrganismos e marcada diminuição de sua atividade à medida em que aumentou-se o tempo após manipulação; 6) Sealer 26 foi efetivo somente por contato direto em todos os tempos testados, com exceção do *S. aureus*

que apresentou pequeno halo de inibição no período imediato; 7) *E. faecalis* foi o microrganismo mais resistente e *C. albicans* o mais sensível. Quanto ao contato direto: 1) No tempo de manipulação imediato, Endo-Fill e Endométhasone tiveram maior ação antimicrobiana e esses cimentos não diferiram entre si. O Sealer 26 foi o que teve menor ação antimicrobiana; 2) Nos demais tempos de manipulação não houve diferenças estatisticamente significantes entre os cimentos estudados; 3) Para *A. naeshundii* e *S. aureus* o cimento que apresentou maior inibição foi o Endo-Fill; 4) Para *E. faecalis* não houve diferença estatisticamente significativa entre os cimentos; 5) Para *S. sanguis* os cimentos Endo-Fill e Endométhasone apresentaram as maiores inibições de crescimento; 6) Para *C. albicans* o Endométhasone apresentou maior inibição; 7) *E. faecalis* foi o microrganismo mais resistente e *S. sanguis* e *S. aureus* os mais sensíveis; 8) Não houve diferença estatisticamente significativa quanto a dissolução dos cimentos. Concluímos que a atividade antimicrobiana de cada cimento diminui com o decorrer do tempo e depende da vulnerabilidade do microrganismo envolvido.

PALAVRAS-CHAVE: cimentos endodônticos; ação antimicrobiana, microrganismo.

1. INTRODUÇÃO

Todas as etapas do tratamento endodôntico estão intimamente relacionadas, e possuem igual importância para o sucesso dessa terapia. Dentre elas, é consenso entre a maioria dos autores que a obturação completa do sistema de canais radiculares, com materiais não irritantes, é de fundamental importância para esse sucesso (LEONARDO & SIMÕES FILHO, 1991).

Atualmente, o método de obturação mais utilizado é aquele que emprega um núcleo sólido ou semi-sólido, como a guta-percha, e um cimento obturador, o qual deve permitir a cicatrização normal e o selamento biológico pela deposição de tecido mineralizado, a nível apical e periapical. Além de propriedades como adesão, estabilidade dimensional, insolubilidade e ação antimicrobiana, o cimento não deve interferir com o processo de reparo e, quando extravasado, não ser lesivo às células do hospedeiro, sendo fagocitado por macrófagos (LEAL, 1991).

Os cimentos obturadores de canais radiculares à base de óxido de zinco e eugenol vêm sendo empregados há vários anos, desde que Grossman os introduziu no mercado em 1936. A versão brasileira fabricada e comercializada a partir de 1965, foi denominada de Fill Canal e vem sendo amplamente empregada, atualmente substituído pelo Endo-Fill, com a mesma fórmula pela Herpo Produtos Dentários Ltda (LEAL, 1991).

Estudos realizados por SIMÕES FILHO (1969), HOLLAND et al. (1974), LEAL et al. (1975), BENATTI et al. (1978) demonstram que o Endo-Fill apresenta bons resultados do ponto de vista físico-químico tais como impermeabilidade, constância de volume, adesão e solubilidade relativa. A presença de resina hidrogenada confere à mistura

uma boa adesividade, o subcarbonato de bismuto o torna mais plástico e o sulfato de bário melhora a sua radiopacidade.

No que se refere à biocompatibilidade, o Endo-Fill não apresenta um comportamento favorável (LEONARDO, 1973; BONETTI FILHO, 1990). Sua ação sobre os tecidos revelou a presença de processo inflamatório crônico (BIVEN et al., 1972; YESILSOY et al., 1988; BONETTI FILHO, 1990; BARBOSA et al, 1993), levando à injúria tecidual, atribuída à presença de eugenol livre, que atuaria como depressor celular (HUME, 1984; HOLLAND et al., 1971), o qual pode permanecer por períodos prolongados de tempo (MOLNAR, 1967; YESILSOY et al., 1988; TANOMARU FILHO, 1996). A persistência da agressão ocasionada por esse cimento pode ser observada por períodos de até 10 anos (MOLNAR, 1967; YESILSOY et al., 1988).

O Endométhasone é outro cimento à base de óxido de zinco e eugenol ao qual se incorporam substâncias melhorando a plasticidade, radiopacidade, poder anti-séptico e, simultaneamente, possuindo uma ação antiinflamatória através da presença de dois corticosteróides. Apresenta propriedades físico-químicas muito próximas a de outros cimentos do grupo óxido de zinco/eugenol, embora clinicamente seja carente de viscosidade pois não possui resina hidrogenada ou branca em sua fórmula, substância esta que melhora o aspecto físico-químico dos cimentos obturadores de canais radiculares (LEAL,1991).

LASALA, em 1979, indica o uso do Endométhasone em casos de canais radiculares com grande sensibilidade apical, onde se espera um pós-operatório doloroso, pois os corticosteróides deste produto atuariam como antiinflamatórios, junto aos tecidos periapicais. ORSTAVIK & MJOR, em 1988, verificaram uma tolerância tecidual muito

próxima àquela observada para os outros cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, e com rápida perda de atividade antimicrobiana e sua inativação pelos fluidos orais. PUPO, em 1976, analisando a ação anti-séptica dos cimentos de uso endodôntico comparou o Fill canal e o Endométhasone entre outros cimentos, frente a amostras de microrganismos freqüentes em canais radiculares infectados. Ele observou que todos os cimentos testados apresentaram variações de atividade antimicrobiana e de modo geral mais pronunciadas nas etapas iniciais; o cimento Endométhasone e AH26 mostraram atividade antimicrobiana frente a todos os microrganismos testados, apenas imediatamente após o seu preparo, porém com decréscimo acentuado nos períodos subseqüentes.

Dentre os cimentos que contêm hidróxido de cálcio encontra-se o Sealer 26. Embora constitua-se num cimento recente, determinados aspectos físico/químicos, como sua capacidade seladora apical frente a penetração de corantes e seu tempo de endurecimento, já têm sido estudados por alguns autores (SIQUEIRA JR & GARCIA FILHO, 1994; BONETTI FILHO et al., 1995; HOLLAND et al., 1996).

Quanto à biocompatibilidade do Sealer 26, SILVA, em 1995, observou que a necrose dos tecidos periapicais ocorreu independentemente do nível de obturação. Mesmo nos casos onde o Sealer 26 ficou restrito ao interior do canal radicular ou se localizou no nível da abertura apical, pode-se observar agressividade deste cimento, caracterizada por áreas de necrose e reabsorção dos tecidos mineralizados.

Outro cimento endodôntico à base de resina plástica, o AH-Plus, foi introduzido no mercado em 1996, mantém as mesmas propriedades físico-químicas vantajosas do seu precursor (AH-26), ou seja, uma alta radiopacidade, baixa solubilidade e pouca contração. Esse material é composto de duas pastas, desenvolvidas a partir da química das resinas tipo

epoxi-aminas, sendo de fácil manipulação, adaptação às paredes do canal radicular e apresentando estabilidade dimensional a longo prazo (AL-KATHAR et al, 1995). AH-Plus apresenta resultados histológicos muito bons, segundo ALMEIDA (1997) principalmente levando em conta o período experimental de 90 dias. O autor acredita também que em períodos mais longos, 180 ou 270 dias, a incidência de selamento biológico completo deva ocorrer em altas porcentagens.

Nenhum cimento endodôntico é capaz de aderir quimicamente, de forma perfeita, às paredes do canal radicular, permitindo desta forma a ocorrência de infiltração marginal, particularmente na interface dente-material obturador. A extensão da microinfiltração sem comprometer a performance clínica do material, ainda não foi estabelecida. Desta forma a ação antimicrobiana é importante para eliminar ou impedir a proliferação de microrganismos que tenham sobrevivido ao preparo químico-mecânico ou provenientes da microinfiltração (coronária ou apical). Entretanto, a restauração permanente do dente torna-se imprescindível imediatamente após o tratamento endodôntico (KHAYAT et al, 1993).

No âmbito dos efeitos antimicrobianos, KAPLAN et al., em 1999, avaliando *in vitro* os efeitos antimicrobianos de vários cimentos endodônticos, frente a cepas bacterianas diversas, verificaram que ocorreram halos de inibição que variaram dependendo das cepas bacterianas e do tempo de contato das mesmas com a placa de ágar. Consideraram que os cimentos que contêm eugenol e formaldeído provêem um controle mais efetivo de atuação em relação as bactérias testadas..

Considerando a literatura consultada, tivemos como proposta avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de diversos cimentos endodônticos (Endo-Fill, Endométhasone, Sealer 26 e AH-Plus), frente a algumas cepas microbianas (*Candida albicans*,

Staphylococcus aureus, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeshundii* e *Enterococcus faecalis*), utilizando duas metodologias: método de difusão em ágar e método de contato direto em meio líquido.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. GRUPOS BACTERIANOS

Das mais de 300 espécies microbiológicas que habitam a cavidade oral, mais de 150 já foram isoladas dos canais radiculares, embora cada canal radicular abrigue em média somente três a seis combinações microbiológicas (SUNDQVIST, 1994) com grande prevalência de anaeróbios estritos.

Nestas interações bacterianas, de infecções endodônticas, ocorrem relações tanto positivas (mutualismo e comensalismo), como as negativas (antagonismo e competição), onde no primeiro caso, ambas se beneficiam na relação, ou, uma se beneficia em relação a outra sem que esta última seja afetada. No segundo caso - relações negativas - uma espécie se beneficia da outra, disputando espaços e nutrientes no interior do canal radicular, ou, liberando substâncias (bacteriocinas ou metabólitos) que inibem o crescimento de outras (SUNDQVIST, 1992b; GOMES et al. 1994b; GOMES,1995)

Como exemplo, podemos citar alguns gêneros facultativos, como os estreptococos que produzem moléculas protéicas, denominadas bacteriocinas, inibindo o crescimento de bactérias anaeróbias estritas. Efeito este que pode ser evidenciado na porção mais coronária de um canal radicular infectado (SUNDQVIST, 1992b).

Ainda, dentre outros fatores que promovem a seleção das bactérias no ecossistema dos canais radiculares infectados, incluem-se: os nutricionais, baixo potencial de óxido-redução, pH, temperatura, resistência do hospedeiro e presença de agentes antimicrobianos e inibidores. Todos estes fatores, tendem a favorecer o crescimento de espécies anaeróbias

(BERGENHOLTZ & CRAWFORD, 1989; MARSH & MARTIN, 1992; GOMES, 1995).

A patogenicidade da microbiota mista no canal radicular é potencializada pelo sinergismo bacteriano (SUNDQVIST, 1994; GOMES et al., 1994b). Relações também ocorrem entre o hospedeiro e a bactéria, ou ainda, entre uma ou várias bactérias específicas e aspectos clínicos (GOMES et al., 1994 a; 1996 a,b). Contudo, há casos, em que essas relações bacterianas apresentam efeito negativo na própria população microbiana, inibindo um grupo particular de espécies e concomitantemente aumentando a defesa do hospedeiro na reação contra o agente infeccioso, restaurando a saúde (GOMES, 1996 c).

Os microrganismos mais freqüentemente isolados dos canais radiculares (Tabela 1) são: os facultativos – *Streptococcus* e as espécies relacionadas tais como *Enterococcus* e *Gemella*; e os anaeróbios estritos - *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* e *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* e *Capnocytophaga*. Também são isolados com freqüência: *Neisseria*, *Haemophilus*, *Eikenella*, *Staphylococcus*, *Mitsuokella* e *Wolinella*. Ocasionalmente é relatada a presença dos seguintes facultativos: *Enterobacter*, *Bacillus*, *Tissierella*, *Campylobacter* e *Actinobacillus*. Mais raramente, foram isolados os facultativos: *Hafnia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Aerobacter* e *Alcaligenes*; e os aeróbios: *Mycobacteria*, *Nocardia*, *Mima*, *Pseudomonas*, *Candida* e *Micrococcus* (MORSE, 1987; SUNDQVIST, 1994; GOMES, 1995).

Fazendo parte desta alteração bacteriana, *Fusobacterium nucleatum* é a espécie mais comumente isolada de canais com polpas necrosadas, tendo sido isolado de cerca de 48% dos casos (SUNDQVIST, 1994) estando também, freqüentemente associado com abscessos nas infecções perirradiculares severas (HEIMDAHL et al., 1985).

Bactérias do gênero *Actinomyces*, principalmente *Actinomyces israelii*, têm sido isoladas de canais com sintomatologia persistente e de casos persistentes à terapêutica endodôntica (BORSSÉN & SUNDQVIST, 1981; HAPPONEN, 1986; SAKELLARIOU, 1996).

Espiroquetas, do gênero *Treponema*, podem ser isoladas de canais radiculares infectados e envolvidos periodontalmente, com frequência relativamente alta (DAHLE et al., 1993) observadas através de microscopia de campo escuro (TROPE et al., 1992).

Além destas, inúmeras outras espécies de bactérias anaeróbias estritas, conforme citado anteriormente, têm sido isoladas de canais radiculares em diferentes situações clínicas.

Na microbiota dos canais radiculares infectados prevalecem os facultativos nos estágios iniciais e aproximadamente aos sete dias, 50% da microbiota já é composta de anaeróbios estritos. Após três meses a proporção destes microrganismos pode chegar a 85% da microbiota, e após seis meses, há um predomínio acentuado de anaeróbios estritos, os quais constituem mais de 90 % dos microrganismos isolados (FABRICIUS et al., 1982).

Entretanto, a microbiota de canais com insucesso do tratamento endodôntico difere daquela encontrada normalmente em dentes necrosados e não tratados, tanto qualitativamente quanto quantitativamente sendo caracterizada por monoinfecções com predominância de bactérias anaeróbicas facultativas (MOLANDER et al., 1998, SUNDQVIST et al. 1998).

Enterococcus faecalis (cocos Gram-positivos facultativos) e *Candida albicans* (levedura) têm sido encontrados em canais radiculares com lesões periapicais persistentes após o tratamento endodôntico (NAIR et al. 1990; MOLANDER et al. 1998; SUNDQVIST

et al. 1998).

Pseudomonas aeruginosa, bacilo aeróbio Gram-negativo, também tem sido isolado de infecções persistentes, tanto endodônticas quanto perirradiculares (RANTA et al., 1988).

Tabela 1. Bactérias comumente isoladas em polpas necróticas infectadas. (GOMES, 1995)

Bactérias Anaeróbias Estritas		
	GÊNERO	ESPÉCIES/GRUPOS COMUNS
Bastonetes Gram-negativas	<i>Porphyromonas</i>	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i>
	<i>Prevotella</i>	<i>P. oralis</i> , <i>P. oris</i> , <i>P. buccae</i> <i>P. intermedia</i> , <i>P. melaninogenica</i>
	<i>Fusobacterium</i>	<i>F. nucleatum</i> , <i>F. necrophorum</i>
	<i>Selenomonas</i>	<i>S. sputigena</i>
	<i>Campylobacter</i>	<i>C. sputorum</i> , <i>C. recta</i>
Bastonetes Gram-positivos	<i>Eubacterium</i>	<i>E. alactolyticum</i> , <i>E. lentum</i>
	<i>Propionibacterium</i>	<i>P. acnes</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. cateniforme</i> , <i>L. plantarum</i>
	<i>Actinomices</i>	<i>A. israelii</i> , <i>A. viscosus</i>
Cocos Gram-positivos	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. anaerobius</i> , <i>P. micros</i> , <i>P. prevotii</i> , <i>P. magnus</i>
Cocos Gram-negativos	<i>Veillonella</i>	<i>V. parvula</i>
Bactérias Anaeróbias Facultativas		
	GÊNERO	ESPÉCIES/GRUPOS COMUNS
Cocos Gram-positivos	<i>Streptococcus</i>	<i>S. mitis</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. oralis</i>
	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>
Bastonetes Gram-negativos	<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i>
	<i>Capnocytophaga</i>	<i>C. gingivalis</i>
Cocos Gram-negativos	<i>Neisseria</i>	<i>N. sicca</i> , <i>N. flava</i>
Bastonetes Gram-positivos	<i>Corynebacterium</i>	<i>C. xerosis</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>
	<i>Actinomyces</i>	<i>A. naeslundii</i>
	<i>Propionibacterium</i>	<i>P. propionicum</i>

2.2. VIAS DE ACESSO DOS MICRORGANISMOS AOS CANAIS RADICULARES

A infecção do sistema de canais radiculares é normalmente uma extensão da contaminação oral. Existem diferentes rotas de acesso para que microrganismos orais atinjam a polpa tais como infiltrações coronárias causadas por restaurações temporárias ou permanentes inadequadas, exposições diretas da polpa ao meio bucal após traumas, exposição de túbulos dentinários, canais acessórios, forame apical e até mesmo via circulação sistêmica (anacorese) (OGUNTEBI, 1994). Porém, a via mais comum de contaminação é a cárie dental, induzindo sucessivas respostas inflamatórias no tecido pulpar, culminando com a necrose, caso não sejam adotadas medidas terapêuticas (SUNDQVIST, 1992 a; GOMES, 1995).

CÁRIE

Bactérias Gram-positivas predominam nos processos cariosos. Entre os organismos mais encontrados destacam-se os anaeróbios facultativos tais como *Lactobacillus* spp., *Streptococcus oralis* e *Streptococcus anginosus* (HAHN et al., 1991). Mesmo com o desenvolvimento da tecnologia anaeróbica, não houve aumento no isolamento de bactérias anaeróbias estritas nas lesões cariosas, como ocorreu nos canais radiculares contaminados (SUNDQVIST et al., 1989).

HOSHINO et al., em 1992, relataram que, em seis de nove casos, as bactérias presentes em lesões profundas de cárie de dentina foram capazes de invadir a polpa.

Bactérias anaeróbias estritas dos gêneros *Eubacterium*, *Propionibacterium* e *Actinomyces* foram as predominantes.

Na maioria das vezes, as bactérias não alcançam a polpa via túbulos até que o processo carioso tenha destruído o tecido dentinário e deixado uma espessura remanescente de dentina de 0,2 mm que o separe da polpa (DAHLÉN & MÖLLER, 1992).

TÚBULOS DENTINÁRIOS

Já é bem estabelecido que mesmo sem a exposição direta da polpa dental ao meio bucal, microrganismos e seus subprodutos são capazes de atingi-la através dos túbulos dentinários.

O diâmetro dos túbulos dentinários é inteiramente compatível com o da maior parte das bactérias encontradas na cavidade oral. Desta forma, se este fosse o único fator envolvido na invasão bacteriana, seria apropriado afirmar uma vez que a dentina exposta, bactérias têm livre acesso à polpa.

Até a década de 70 acreditava-se que as bactérias nos túbulos dentinários encontravam-se sepultadas, não havendo nos mesmos, condições para sua sobrevivência. Com o avanço tecnológico, esse conceito foi alterado. Os autores são unânimes quando afirmam que, após a necrose pulpar, os túbulos dentinários constituem um importante reservatório de microrganismos, por meio dos quais a reinfecção pode ocorrer. No terço apical, onde o cemento é de natureza celular, os cementoplastos abrigam esses microrganismos que poderão manter a lesão periapical (ORSTAVIK & HAAPASALO, 1990; LEONARDO et al., 1995; PETERS et al., 1995).

Também, esses autores afirmam que nos túbulos dentinários esses microrganismos estão protegidos da solução irrigadora, medicação intra-canal, assim como dos instrumentos endodônticos, sendo responsáveis pelas infecções persistentes.

Em 1990, ANDO & HOSHINO, em dentes humanos, verificaram a presença de 80% de bactérias anaeróbias estritas nos túbulos dentinários em camadas profundas.

Salientando que os túbulos dentinários seriam fontes de nutrientes para a sobrevivência de bactérias nos túbulos dentinários, PETERS et al., (1995), reafirmam o que ORSTAVIK & HAAPASALO, já haviam observado em 1990, ou seja, que há sobrevivência de microrganismos nos túbulos dentinários, após terapia do canal radicular.

A penetração de microrganismos nos túbulos dentinários, atingindo a junção dentina-cimento, foi também verificada microscopicamente por NAGAOKA et al., (1995).

A penetrabilidade de microrganismos é dependente do período da infecção. AKPATA & BLECHMAN (1982) observaram a maior penetrabilidade na dentina radicular, particularmente nos terços cervical e médio. Apesar dos procedimentos operatórios indubitavelmente reduzirem o número de microrganismos viáveis na luz do canal radicular, a complexa anatomia do sistema de canais radiculares, torna virtualmente impossível seu debridamento completo. Existem evidências de que após o tratamento endodôntico, nutrientes ainda podem ser fornecidos através dos túbulos dentinários infectados (ORSTAVIK & HAAPASALO, 1990) e está claro que, mesmo o mais cuidadoso preparo biomecânico do canal radicular, é insuficiente na eliminação de todas as bactérias viáveis nos túbulos dentinários (ABDULKADER et al., 1996).

Sem dúvida, atualmente, um dos objetivos de um tratamento endodôntico é também o combate ou redução dos microrganismos existentes e persistentes nos túbulos

dentinários, visto não serem os mesmos atingidos pela instrumentação e pela solução irrigadora (HAAPASALO & RANTA, 1987; SUNDQVIST, 1994; SIQUEIRA JR. et al., 1996).

Embora o preparo biomecânico do canal radicular seja a principal forma de combater a infecção da luz do canal radicular, as bactérias alojadas em áreas inacessíveis, como túbulos dentinários, ramificações e erosões apicais, ou em áreas onde se encontra formado o biofilme apical, freqüentemente não são atingidas pela ação mecânica dos instrumentos endodônticos, assim como, pela ação química das soluções irrigadoras (SHOVELTON, 1964; TRONSTAD et al., 1987; NAIR et al., 1990; KIRYU et al., 1994; SIQUEIRA JR. et al., 1996).

Apesar de respeitados os princípios biológicos e técnicos para a eliminação bacteriana do canal radicular, ou seja, o emprego de solução irrigadora com propriedades antimicrobianas, suficiente volume da mesma, ampliação da luz do canal radicular, estas medidas, conjuntamente com a instrumentação e o uso de medicamentos intra-canais não são suficientes para uma adequada desinfecção do sistema de canais radiculares (SJÖGREN et al., 1997)

Assim, o sucesso da terapia endodôntica é dependente da redução ou eliminação desses microrganismos, devendo o endodontista estar informado acerca das espécies bacterianas específicas envolvidas nas patologias pulpares e periapicais (MÖLLER et al., 1981; NAIR, 1987), assim como dos mecanismos por meio dos quais elas perpetuam as lesões inflamatórias periapicais (BYSTRÖN et al., 1987; FUKUSHIMA et al., 1990; TRONSTAD et al., 1990b).

Nos dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica, quando o canal radicular é aberto para tratamento endodôntico, rompe-se a condição de anaerobiose (SJÖGREN et al., 1991), assim como o preparo biomecânico elimina bactérias e priva o canal radicular de nutrientes, interferindo, dessa forma, com as associações bacterianas (SUNDQVIST, 1992 b).

Entretanto, após o selamento do canal radicular, a condição de anaerobiose é restabelecida e o influxo de fluidos teciduais, advindos do tecido conjuntivo periapical, para o interior do mesmo, através da erosão cementária apical, pode novamente auxiliar o crescimento e a multiplicação de microrganismos que tenham sobrevivido ao preparo químico-mecânico (TRONSTAD et al., 1987; SUNDQVIST, 1992b; TROPE et al., 1999).

EXPOSIÇÃO PULPAR

Todavia antes mesmo de que bactérias atinjam diretamente a polpa, seus produtos, como enzimas, toxinas, ácidos graxos, compostos sulfurados e amônia, difundem-se pelo fluido dentinário, alcançando a polpa (BERGENHOLTZ, 1974).

Entretanto, túbulos dentinários associados a uma polpa vital não são facilmente invadidos por bactérias. A presença de prolongamentos odontoblásticos, de fibras colágenas, da lâmina limitante e do fluido dentinário em túbulos de uma dentina vital pode retardar a invasão intratubular. Outros fatores, como esclerose dentinária, dentina reparadora, *smear layer*, deposição de proteínas plasmáticas, como fibrinogênio, nas paredes tubulares, podem limitar ou impedir o avanço bacteriano via túbulos dentinários. Por sua vez, túbulos dentinários de dentes tratados endodonticamente ou com polpa necrosada são facilmente invadidos por bactérias (NAGAOKA et al., 1995; SEN et al., 1995).

NAGAOKA et al., (1995) observaram que a polpa dental pode ser infectada mesmo quando ainda isolada por 0.2 mm de dentina. A infecção, no entanto, depende da condição pulpar. Polpas sadias podem eliminar infecções transitórias de algumas poucas bactérias pois, prolongamentos odontoblásticos, matriz extracelular e fluido dentinário dificultam a penetração bacteriana nos túbulos dentinários dos dentes vitalizados. Entretanto, se os mecanismos de defesa da polpa estiverem comprometidos, mesmo poucos organismos são capazes de causar infecção.

NISSAN et al., (1995), demonstraram que a endotoxina, fator de virulência de alto peso molecular liberado por bactérias Gram-negativas, pode se difundir pela dentina e alcançar a polpa. A difusão de produtos bacterianos pela dentina induz alterações inflamatórias no tecido pulpar.

Assim, a intensidade da resposta inflamatória pulpar sob uma área de dentina cariada pode ser influenciada pela virulência microbiana, pela concentração que os produtos bacterianos atingem na polpa, pela duração da agressão e pelo estado geral de saúde da polpa. Se o dente é tratado por remoção da cárie e restauração adequada, a polpa volta ao normal (NAGAOKA et al., 1995).

Por outro lado, a polpa pode encontrar-se debilitada como resultado de um processo carioso de longa duração, envolvimento periodontal, envelhecimento ou trauma. Nestas circunstâncias, a inflamação pulpar pode ser mais deletéria, pois há uma predisposição para o acúmulo de produtos bacterianos tóxicos no tecido (NAGAOKA et al., 1995).

Se a cárie não for tratada convenientemente, microrganismos inevitavelmente alcançarão o tecido pulpar, estabelecendo um contato direto e induzindo o desenvolvimento

de uma inflamação mais severa (FABRICIUS et al. 1982; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991; HASHIOKA et al, 1992)

Assim, quando a lesão de cárie destrói quantidade suficiente de tecido dentinário, a polpa torna-se então exposta diretamente a microrganismos e seus produtos, presentes tanto na lesão cariosa quanto na saliva. Uma miríade de espécies bacterianas passa a colonizar a superfície da polpa exposta. Segundo HOSHINO et al., (1992), em dois terços dos casos (6/9) bactérias presentes nas lesões profundas de cárie de dentina, foram capazes de invadir a polpa. Em resposta, a polpa toma-se inflamada. Se o tecido pulpar irá permanecer inflamado por um longo período de tempo ou se irá sucumbir, necrosando, dependerá dos seguintes fatores: número e virulência dos microrganismos; resistência do hospedeiro; estado da microcirculação; e grau de drenagem do edema gerado durante a inflamação (MÖLLER et al., 1981).

Com a exposição da cavidade pulpar, a densidade bacteriana e o número de bactérias elevado, o tecido pulpar passa então a ser afetado por maiores concentrações de produtos bacterianos tóxicos. Desta forma, a porção tecidual em contato direto com o agente agressor sofre alterações inflamatórias severas, culminando com sua necrose. Esta área de tecido necrosado não oferece qualquer resistência à invasão bacteriana, que se dá por meio de proliferação celular. Uma vez que avançaram apicalmente na polpa, bactérias passam a agredir a porção tecidual subjacente. Este passará pelos mesmos fenômenos já descritos, sofrendo necrose. Depreende-se, então, que os processos de inflamação, necrose e invasão bacteriana avançam gradualmente pelo tecido pulpar em direção apical (MÖLLER et al., 1981; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991).

A polpa também pode tornar-se exposta após trauma ou por procedimentos iatrogênicos. Uma polpa vital, sadia, exposta por trauma, apresenta uma grande resistência à invasão bacteriana, a qual ocorre lentamente. Por exemplo: quando uma lesão traumática resulta em exposição da polpa e esta permanece exposta à saliva por duas semanas, a necrose pulpar e a invasão bacteriana usualmente irão restringir-se apenas a uma extensão de 2 mm (BAUMGARTNER , 1996). Uma polpa exposta por trauma e que tenha permanecido até 48 horas em contato com a microbiota da cavidade oral é ainda passível de recuperação por meio de capeamento direto. Se o período de exposição excede 48 horas, considera-se a porção superficial da polpa já infectada, requerendo um tratamento mais invasivo, como pulpotomia ou tratamento endodôntico radical.

A exposição iatrogênica da polpa não oferece maiores problemas se ocorrer de forma asséptica. Contudo, se houver contaminação pela saliva ou pelo próprio instrumento que promoveu a exposição (por exemplo, brocas contaminadas por cárie), a resposta da polpa dependerá do número e virulência dos microrganismos introduzidos; do seu estado de saúde; e do tratamento e medidas restauradoras a serem instituídos. (SIQUEIRA JR. et al., 1996)

CANAIS LATERAIS, ACESSÓRIOS, DELTAS E FORAME APICAL

Durante o curso de uma doença periodontal, bactérias e seus produtos presentes na bolsa podem ter acesso à polpa via forames laterais associados a ramificações do canal (canal lateral), túbulos dentinários e forame apical (LANGELAND et al., 1977).

Canais laterais estão presentes em cerca de 27,4% dos dentes, sendo mais freqüentes em pré-molares e molares, mormente na região mais apical (De DEUS, 1975).

Túbulos dentinários podem estar expostos em 10% dos casos na região cervical do dente por ausência de coaptação entre esmalte e cimento (TEN CATE, 1988). Além disso, os túbulos podem ainda ser expostos por perda do envoltório de cimento, oriundo da necrose e/ou reabsorção deste tecido, ou de sua remoção por procedimentos periodontais. A exposição de forames laterais e túbulos dentinários às bactérias da bolsa não parece induzir maiores alterações no tecido pulpar, desde que este esteja em estado de vitalidade. Alterações degenerativas, como calcificações, fibrose e produção de dentina reparadora, podem ser observadas na porção pulpar adjacente a um forame lateral exposto.

Entretanto, existem fortes evidências de que a total desintegração do tecido pulpar, caracterizada por necrose, apenas quando a doença periodontal atinge o forame apical. Nesses casos o feixe vâsculo-nervoso principal que penetra pelo forame apical pode ser lesado, havendo necrose pulpar. Destarte, a invasão bacteriana pelo forame fica facilitada, uma vez que a polpa não tem mais como combatê-la (LANGELAND et al., 1977; KIRYU et al., 1994).

KOBAYASHI et al., 1990, examinando 15 dentes com necrose pulpar associada a bolsas periodontais de 6 a 12 mm de profundidade, que atingiam o forame apical coletaram amostras microbiológicas tanto da polpa quanto da bolsa. Eles verificaram que o predomínio de anaeróbios estritos foi mais pronunciado no canal do que na bolsa periodontal. Várias espécies bacterianas dos gêneros *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* e *Prevotella* foram comuns a ambos os sítios. KURIHARA et al., 1995, também realizaram um estudo desta natureza e verificaram que enquanto na bolsa periodontal o número de espécies bacterianas isoladas era elevado, no canal radicular este número era reduzido. As espécies que predominaram na bolsa nem

sempre foram as mesmas que predominaram no canal do mesmo dente. Isto pode ser facilmente explicado pelas diferenças de nichos ecológicos. Ambos os estudos citados sugeriram que a causa da infecção pulpar foi a doença periodontal.

ANACORESE HEMATOGÊNICA

Este fenômeno pode ser definido como a atração que tecidos inflamados, debilitados ou necrosados exercem sobre bactérias presentes na circulação sangüínea durante uma bacteremia transitória. Estas bactérias passam a colonizar estes tecidos alterados, estabelecendo, assim, um processo infeccioso (TZIAFAS, 1989).

Evidências sugerem que esta via de infecção da polpa pode ocorrer, como, por exemplo, nos casos de dentes traumatizados que, mesmo sem apresentarem exposição pulpar, podem desenvolver uma infecção na polpa e conseqüente lesão perirradicular (DEBELIAN et al., 1995; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991).

Ocorrido o trauma, o feixe vâsculo-nervoso que penetra pelo forame apical pode ser rompido, resultando em necrose pulpar. Se a necrose permanece estéril, não há o desenvolvimento de uma patologia perirradicular. Contudo, o trauma pode acarretar uma lesão no ligamento periodontal, rompendo vasos sangüíneos, o que é caracterizado clinicamente pela hemorragia sulcular. Bactérias que colonizam o sulco gengival podem, então, ter acesso à corrente sangüínea pelo rompimento desses vasos, ocorrendo uma bacteremia. Se o trauma também promove a ruptura de vasos sangüíneos ao nível apical, a polpa é afetada. Bactérias na corrente sangüínea deixarão os vasos nesta região, podendo encontrar na polpa afetada condições propícias para se estabelecerem. Outrossim, bactérias

da microbiota normal do intestino têm sido isoladas de canais radiculares. Estas podem ser veiculadas no canal pelo profissional, durante a execução da terapia endodôntica sem adequados cuidados de assepsia (ENGSTRÖM, 1964; HAAPASALO et al., 1983; SIREN et al., 1997), ou ser oriundas de uma bacteremia (DEBELIAN et al., 1995, 1997).

Embora essa via seja possível, a hipótese mais verossímil para explicar a infecção pulpar em dentes traumatizados pode ser outra. Quando acometido por um traumatismo, o esmalte dental pode apresentar rachaduras e/ou fissuras, ou acentuá-las (se já existentes), que expõem a dentina em extensões de profundidades variáveis. Tais defeitos são, na maioria das vezes, imperceptíveis clinicamente. Por eles, bactérias podem invadir os túbulos dentinários expostos, os quais não oferecem maior resistência, uma vez que o seu conteúdo encontra-se necrosado e sem função, como resultado da necrose pulpar advinda do trauma (WITTGOW & SABISTON, 1975; SUNDQVIST, 1976). Se a injúria traumática não afetar a vitalidade pulpar, bactérias não conseguirão invadir os túbulos e, desta forma, alcançar a polpa .

INFECÇÃO EXTRA RADICULAR

O progresso científico dos estudos microbiológicos revolucionou, também, o conceito antigo de que os granulomas dentários eram estéreis, e que nos tecidos periapicais esses microrganismos não tinham condições de sobrevivência (TRONSTAD et al., 1987).

Em 1974, SABISTON JR & GOLD, cultivando os microrganismos de abscessos dento-alveolares agudos, identificaram os mesmos como sendo anaeróbios facultativos e estritos, sendo alguns deles resistentes à penicilina.

IWU et al. (1990) analisando lesões periapicais de dentes anteriores humanos, após

remoção cirúrgica das mesmas, verificaram que dos 14 dos 16 granulomas obtidos apresentavam microrganismos, sendo que desses, 45% eram anaeróbios estritos e 55% anaeróbios facultativos.

BAUMGARTNER & FALKLER Jr. (1991) identificando a microbiota dos 5.0 mm apicais de dez dentes humanos extraídos, com exposição da cavidade pulpar por cárie e reação periapical, verificaram que 68% da mesma era representada por anaeróbios estritos.

Reforçaram o conceito de que bactérias estão presentes nos tecidos periapicais HAPPONEN (1986); BYSTRÖN et al.(1987); HAAPASALO & RANTA (1987) mantendo as lesões periapicais. KIRYU et al. (1994) após apicectomia em dentes humanos portadores de lesão periapical crônica, verificaram que bactérias anaeróbias estritas representavam 86% das presentes.

Recentemente, MOLANDER et al. (1998) examinando microbiologicamente o material colhido de 100 dentes com lesão periapical visível radiograficamente, tratados endodonticamente, verificaram que a microbiota destes canais radiculares era composta, predominantemente, por bactérias anaeróbias facultativas.

Resultados semelhantes também foi observado por TANOMARU FILHO (1996) demonstrando que há necessidade do emprego de algum passo operatório clínico, suplementar, para que se possa atingir essa microbiota extra-radicular (TRONSTAD et al., 1990 a,b) onde bactérias aeróbias e anaeróbias prosperam lado a lado (POTERA, 1996) estabelecendo colônias de biofilme que atingem 50 a 150µm em diâmetros, presente nos dentes portadores de reação periapical crônica, visível radiograficamente.

2.3. CIMENTOS ENDODÔNTICOS

O tratamento endodôntico visa a redução das bactérias do interior do canal radicular, através da manutenção da cadeia asséptica durante todo o tratamento, instrumentação, irrigação, medicação intra-canal, obturação do espaço pulpar e da restauração permanente do dente (WEINE, 1996; SIQUEIRA JR. et al., 1997).

INGLE (1956) enfatiza a importância da qualidade da obturação do canal radicular como fator de sucesso do tratamento empreendido e relaciona a maioria dos fracassos do tratamento endodôntico com a falha na obturação adequada do canal. Parece, assim, ficar evidente o papel da obturação do canal em relação ao sucesso do tratamento.

Um antigo axioma de Sachs, relatado por LEONARDO & SIMÕES FILHO (1991) diz o seguinte: "O mais importante no tratamento endodôntico é o que se retira e não o que se coloca no canal radicular". Se esse axioma fosse verdadeiro na sua totalidade, não teríamos tido progressos na Endodontia, uma vez que o paradigma endodôntico atual foi estabelecido no final do século passado: abertura coronária, limpeza, desinfecção e obturação dos canais radiculares (CALLAHAN, 1894).

Os pesquisadores não só se preocuparam com o que se remove do canal radicular, mas também quanto às técnicas da biomecânica, com a desinfecção dos canais radiculares, com as soluções auxiliares da instrumentação, com a medicação intracanal e com os materiais obturadores. Assim, com muita propriedade, SOUZA* (1997) altera o velho

axioma para um outro que diz: "Num tratamento de canal radicular é muito importante o que dele se retira, porém, não menos importante é o que nele se coloca".

A obturação do canal radicular, ou seja, o fechamento "hermético" do espaço preparado, antes ocupado pela polpa dental, é uma meta buscada pelos cirurgiões-dentistas há mais de um século.

Constata-se, em vários trabalhos, uma série de propriedades que um cimento obturador de canais radiculares deve possuir. Essa lista modificada após os trabalhos de GROSSMAN (1958) e BRANSTETTER & FRAUNHOFER (1982) fica assim estabelecida:

- 1) Deve ser de fácil introdução no canal radicular;
- 2) Deve obliterar o canal, tanto lateral como apicalmente;
- 3) Depois de inserido, não deve apresentar contração;
- 4) Deve ser impermeável à umidade;
- 5) Deve ser bacteriostático ou pelo menos impróprio ao crescimento microbiano;
- 6) Deve ser radiopaco;
- 7) Não deve manchar a estrutura dentária;
- 8) Deve ser estéril ou passível de ser esterilizado de modo fácil e rápido;

*SOUZA, W. (Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP) Comunicação pessoal, 1997.

- 9) Não deve irritar o tecido periapical;
- 10) Deve ser de fácil remoção do canal radicular, quando isto se fizer necessário;
- 11) Deve apresentar boa adesão com as paredes do canal.

GROSSMAN, continuando suas investigações, realizou uma série de mudanças na fórmula de seu cimento obturador do canal radicular contendo óxido de zinco/eugenol removendo a prata e adicionando outros agentes radiopacos. Essas mudanças ocorreram em 1958, 1962 e culminou com a fórmula final de 1974.

Na atualidade, existem muitos tipos de cimentos obturadores de canais radiculares, tais como: a) cimento à base de óxido de zinco / eugenol; b) cimentos à base de hidróxido de cálcio ; c) cimentos à base de resinas e d) cimentos à base de ionômero de vidro. Para cada um destes tipos, existem diferentes marcas comerciais e muitos deles são utilizados em nosso país.

Os cimentos à base de óxido de zinco/eugenol mais utilizados são o próprio óxido de zinco (sem aditivos) proposto por GROSSMAN (1974), Fill Canal, Endo-Fill, Procosol e Grosscanal, todos com a mesma fórmula. Além de outros à base de óxido de zinco/eugenol, como Endométhasone, o de Rickert (Kerr Pulp Canal Sealer), Tubli-Seal e o de Wach.

A influência do cimento obturador no resultado final do tratamento endodôntico é um assunto ainda controvertido, principalmente pelo fato de as pesquisas registradas na literatura apresentarem dados bastante divergentes.

Segundo SOUSA-NETO et al. (1999) essas divergências são observadas não só quando se comparam as propriedades de cimentos obturadores diferentes como também quando se analisam dados relativos a um mesmo material.

A história da Endodontia é marcada por incessantes buscas de uma melhor técnica para a limpeza e desinfecção do canal radicular, bem como de um material obturador ideal.

No decorrer deste último século, várias investigações foram realizadas na tentativa de encontrar técnicas e materiais obturadores que pudessem propiciar ao cirurgião-dentista mais sucesso na terapêutica endodôntica (INGLE, 1956).

Dentro do atual paradigma, a obturação do canal radicular é uma premissa incontestável.

A partir do momento em que se preconizou o uso de um cimento endodôntico à base de óxido de zinco/eugenol (GROSSMAN, 1958) todas as atenções voltaram-se para esse fato, o que fez surgir vários pesquisadores interessados em desenvolver outros cimentos levando-se em consideração uma obturação hermética com bons materiais seladores (GROSSMAN, 1962; LEAL, 1966; GROSSMAN, 1974; BERBERT, 1978; LEAL et al, 1988; SIQUEIRA JR. & GARCIA FILHO, 1994; SILVA, 1995; DUARTE et al, 1997).

GROSSMAN (1974) publicou a fórmula do cimento que leva o seu nome e que, após promover alterações sucessivas a partir da primeira composição que preconizou, apresenta os seguintes constituintes: Pó: Óxido de Zinco - 42 partes; Resina Staybelite - 27 partes; Subcarbonato de Bismuto - 15 partes; Sulfato de Bário - 15 partes; Tetraborato de Sódio anidro - 1 parte. Líquido: Eugenol. Nessa nova fórmula, Grossman corrigiu a fórmula proposta em 1962, pois removeu o óleo de amêndoa doce do eugenol para que o cimento não ficasse com dois retardadores do tempo de endurecimento, ou seja, o tetraborato de sódio anidro no pó e o óleo de amêndoa doce no líquido.

A necessidade de se atingir o sucesso clínico de um tratamento endodôntico é evidente, e alguns autores mostram-se preocupados não só com o material obturador como com o preparo do canal radicular antes da obturação.

Após as publicações de RICKERT (1927) e GROSSMAN (1936) que propuseram cimentos específicos para obturação de canais radiculares, inúmeros trabalhos foram realizados na tentativa de esclarecer suas propriedades físico-químicas, biológicas e microbiológicas.

O cimento Endométhasone, possui os seguintes componentes: Pó: dexametasona (0.01g), acetato de hidrocortisona(1.00g), iodo timolado (25.00g), paraformaldeído (2.20g), óxido de zinco, sulfato de bário, estearato de magnésio q.s.p. (100.00g) e o líquido eugenol. O pequeno tamanho das partículas do Endométhasone lhe permite uma maior incorporação do pó ao líquido, o que lhe confere maior consistência. Possui ainda uma importante e duradoura ação antimicrobiana (PUPO,1976) por seu conteúdo de paraformaldeído, que é

um potente anti-séptico. Como consequência da presença de corticosteróides em sua fórmula, Ihe são atribuídas propriedades antiinflamatórias. Suas propriedades físico-químicas são bastante similares aos demais produtos à base de óxido de zinco/eugenol. Possui um tempo de presa (FIDEL et al,1995) de aproximadamente 115 minutos, o que favorece o seu emprego na obturação de canais de dentes multirradiculares.

ORSTAVIK & MJOR (1988) avaliaram a biocompatibilidade do Endométhasone em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos após os períodos de 14 e 90 dias, verificaram que os efeitos tóxicos sobre os tecidos foram similares aos de outros cimentos à base de óxido de zinco/eugenol testados (Procosol, Rickert e N2) os quais foram pronunciados.

KETTERING & TORABINEJAD (1984) avaliaram a citotoxicidade dos cimentos Tubli-Seal, de Grossman, de Wach, AH 26 e Diaket sobre fibroblastos humanos e células HeLa, com cimentos manipulados e posteriormente incubados em duas situações diferentes: à manipulação ou após 48 horas. Nos recém preparados, o Tubli-Seal foi o menos citotóxico para células HeLa, enquanto o AH 26 foi considerado o mais tóxico. Após 48 horas da manipulação, Tubli-Seal mostrou-se novamente menos citotóxico, sendo que o Diaket foi o mais citotóxico. Os cimentos Tubli-Seal, Wach, Grossman e AH 26 apresentaram menor toxicidade que o Diaket sobre fibroblastos, quando em estado recém-preparado. No estado tardio, os resultados revelaram que o Tubli-Seal foi o menos citotóxico, seguido do Wach, cimento de Grossman, AH 26 e Diaket.

Mais recentemente, cimentos contendo hidróxido de cálcio passaram a ser empregados na obturação definitiva dos canais radiculares devido aos vários efeitos biológicos benéficos atribuídos ao hidróxido de cálcio (ALMEIDA, 1997). O ideal seria

melhorar as suas propriedades físico-químicas sem contudo interferir nas propriedades biológicas. Os materiais deste grupo comumente pesquisados e conhecidos são Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Apexit.

Dentre esses cimentos contendo hidróxido de cálcio, o Sealer 26 possui composição similar à do AH 26 (SIQUEIRA JR. & GONÇALVES, 1996) cimento à base de resina epóxica. A diferença básica entre ambos é que o Sealer 26 possui hidróxido de cálcio, enquanto o AH 26 apresenta a prata. O Sealer 26 tem a seguinte composição: hidróxido de cálcio, óxido de bismuto, hexametilenotetramina, dióxido de titânio e como resina o éter de bisfenol A diglicidil.

A proporção ideal do Sealer 26 é de aproximadamente 2 a 3 partes de pó para uma de resina, por volume. Quanto maior a proporção, maior a radiopacidade do cimento. O tempo de presa (FIDEL et al., 1995) se dá cerca de 48 a 60 horas em temperatura ambiente, enquanto que no canal ele endurece em aproximadamente 12 horas. O endurecimento se deve à reação entre a resina e a hexametilenotetramina, o agente ativador. É interessante notar que o hidróxido de cálcio não participa da reação de presa do material.

Dos cimentos resinosos do tipo epoxiaminas o AH-Plus (Top Seal), o Sealer Plus e o Diaket são os representantes atuais destes cimentos resinosos. A composição do AH-Plus, fornecida pelo fabricante (Dentsply – De Trey – Suíça) é a seguinte: Pasta A: Resina epóxica, Tungstato de cálcio, Óxido de zircônio, Aerosil e Óxido de ferro. Pasta B: Amina adamantada, N,N' – Dibenzil-5-oxaniomane-diamina-1,9, TCD-Diamina, Tungstato de cálcio, Óxido de zircônio, Aerosil e Óleo de silicone.

Para se preparar AH-Plus a proporção de mistura é de 1:1, em volume. O tempo de trabalho é de aproximadamente quatro horas a 23°C e seu tempo de endurecimento é de cerca de 8 horas a 37°C segundo o fabricante. Apresenta boa capacidade seladora apical e excelente comportamento biológico, permitindo o selamento do forame pela deposição de um tecido cementóide (ALMEIDA, 1997).

Devido às várias propriedades benéficas que possuem, tais como atividade antibacteriana, efeito cariostático, adesão química à estrutura dentária e biocompatibilidade, os cimentos de ionômero de vidro têm sido amplamente utilizados em Odontologia, como material forrador de cavidades, restaurador, selante de cicatrículas e fissuras e na cimentação de próteses fixas (GETTLEMAN et al. 1991). Devido a tais propriedades, seu uso como cimento endodôntico tem sido preconizado. O Ketac-Endo é o representante mais difundido e estudado deste grupo de cimentos.

Ketac-Endo (CIV) é apresentado em cápsulas e sua mistura deve ser realizada em um vibrador de alta frequência (aproximadamente 4.300 vibrações por minuto), por 10 segundos. Seu tempo de trabalho, incluindo a preparação do material, é de 33 minutos a 23°C. O tempo de endurecimento, nestas condições, é de aproximadamente 90 minutos.

Somente em 1983, a AMERICAN DENTAL ASSOCIATION (ADA) publicou uma norma: "A Especificação 57 para Materiais Obturadores de Canais Radiculares", que padronizou definitivamente os experimentos, tornando assim, os resultados de diferentes trabalhos comparáveis entre si. A aplicação efetiva dessa normatização só ocorreu nos últimos 10 anos e, muitos trabalhos ainda estão para ser realizados.

Segundo a norma 57 da ADA para materiais obturadores de canais radiculares, o tempo de endurecimento deve ser de $\pm 10\%$ daquele informado pelo fabricante. Segundo GROSSMAN (1976), o tempo de endurecimento de um cimento endodôntico deve ser de aproximadamente 20 minutos.

Essa extensa faixa de tempo obtida entre o menor e o maior tempo de endurecimento deve-se provavelmente à composição dos cimentos, uma vez que fatores como temperatura, umidade do ar e espessura da amostra, que interferem na velocidade da reação, sejam idênticos em todos os testes realizados (BATCHERLOR & WILSON, 1969).

BATCHERLOR & WILSON (1969) enfatizaram em seu trabalho a influência que a relação pó/líquido tem sobre as propriedades biológicas dos materiais.

SAVIOLI et al. (1995) estudaram a influência de cada componente químico do cimento proposto por GROSSMAN sobre a relação pó/líquido e o tempo de espatulação obtidos para atingir a consistência clínica ideal. Para se avaliar qual a influência que cada componente do pó e do cimento tem sobre a relação pó/líquido, avaliaram-se sete fórmulas diferentes, acrescentando-se ao óxido de zinco puro os demais componentes da fórmula. Observou-se que o tempo de espatulação necessário para que o cimento atinja a consistência desejada está diretamente relacionado à quantidade de pó utilizada, e que o tempo de espatulação está inversamente relacionado à quantidade de óxido de zinco presente na fórmula.

Detalhes na preparação dos cimentos obturadores podem modificar seus padrões de toxicidade. A dosificação correta pó-líquido, o tempo e a técnica de espatulação são

fatores fundamentais nesse sentido (HOLLAND et al.1971; BENATTI et al.1978). O tempo de endurecimento também está intimamente ligado a toxicidade. Quanto mais prolongado também for esse tempo, maior, em geral, será a irritação produzida. CURSON & KIRK (1968) estudaram a diferença existente entre a relação tissular causada pelos materiais não endurecidos e os já solidificados, observando que a máxima ação irritante produz-se durante o período de endurecimento dos mesmos. SPANGBERG et al., (1973) verificaram que, em estado recém-preparado todos os cimentos são tóxicos, enquanto que, ao tomarem presa, vão lentamente tornando-se inertes.

Na manipulação dos cimentos à base de óxido de zinco/eugenol (OZE), uma matriz de eugenolato é formada. Após a presa do material, 5% da quantidade original de eugenol permanecem livres (MOLNAR, 1967). Além do eugenol que apresenta atividade antibacteriana efeito anestésico e antiinflamatório, os íons de Zn^{2+} , também podem estar envolvidos na inibição do crescimento bacteriano.

MERYON & JAKEMAN (1985) demonstraram que o cimento de óxido de zinco/eugenol após 14 dias libera 26,88ppm de zinco (a concentração plasmática normal é de 1ppm), o que representa grande efeito citotóxico. Nas obturações endodônticas com cimento à base de óxido de zinco/eugenol, uma pequena quantidade pode contatar os tecidos periapicais ao nível do forame apical, e ser suficientemente tóxica, tanto para as bactérias quanto para células do hospedeiro. Se extravasado uma grande quantidade de cimento para os tecido periapicais permite maior difusão do eugenol, exercendo suas propriedades deletérias no processo de reparo tecidual.

A solubilidade e desintegração deve ser a menor possível em um cimento de canal radicular para que esse possa propiciar um fechamento o mais hermético possível, favorecendo o sucesso clínico, pois a infiltração pode ocorrer tanto de cervical para apical como no sentido inverso (LEAL, 1966; SIMÕES FILHO, 1969; HOLLAND et al, 1974; BENATTI et al, 1978).

SIQUEIRA JR. & GARCIA FILHO, em 1994, encontraram as menores médias de infiltração apical do corante azul de metileno nos canais obturados com Sealer 26 quando comparadas com aquelas observadas para o Sealapex e CRCS, embora não houvesse diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados.

Também HOLLAND et al. (1996) encontraram para o Sealer 26 uma boa capacidade seladora apical estatisticamente não significativa, quando comparada com aquela observada para o Sealapex e Apexit e superior às observadas para o CRCS e o cimento OZE.

FIDEL et al. (1994) estudaram a adesividade de vários cimentos que contêm hidróxido de cálcio em suas composições: Sealer 26, CRCS, Apexit e Sealapex, utilizando o Fillcanal como controle. A adesão à dentina com e sem o uso de EDTA foi mensurada. O Sealapex e o Apexit apresentaram as menores adesividades. A aplicação do EDTA à dentina aumentou a adesão do cimento à superfície, com exceção do cimento Sealapex.

BONETTI FILHO et al. (1995) avaliaram a capacidade seladora do Ketac-Endo e do Sealer 26, quando comparados com o Fill Canal, utilizando o corante azul de metileno a 2% como marcador de infiltração. O Sealer 26 apresentou o melhor selamento, seguido do Fill Canal e do Ketac-Endo, que apresentou maior infiltração

SILVA et al. (1997) estudando a adesividade à dentina de algumas marcas comerciais de cimentos obturadores de canais radiculares, observou que, antes da aplicação do EDTAC, a ordem dos cimentos, da maior adesividade para a menor, ficou assim estabelecida: Fillcanal, N-Rickert, Endométhasone e Endométhasone Ivory. Após aplicado o EDTAC, a ordem, da maior adesividade para a menor, ficou assim: Fillcanal, N-Rickert, Endométhasone e Endométhasone Ivory, sendo que estes dois últimos compuseram um grupo à parte, sem diferença estatisticamente diferente entre eles. A aplicação de EDTAC sobre a superfície dentinária surtiu efeitos estatisticamente significantes apenas para o cimento Endométhasone Ivory, ao nível de 5%.

BARBOSA et al., em 1993, verificaram os efeitos citotóxicos dos cimentos endodônticos Fill Canal, N-Rickert, Sealer 26 e a pasta FS. A toxicidade dos materiais foi avaliada pelo método de cromo radioativo, através da contagem direta e indireta do cromo liberado de cultura celulares de fibroblastos gengivais humanos e de células L929 de ratos. Pelos resultados ficou evidente que o Fill Canal, N-Rickert e a pasta FS são altamente tóxicos e que o Fill Canal libera produtos tóxicos tanto recém-preparado como após a presa. O cimento Sealer 26 demonstrou ser o menos tóxico dos estudados.

KOULAOUZIDOU et al., em 1998, avaliaram *in vitro* a citotoxicidade de três cimentos à base de resina: AH26, AH Plus e Top seal. Este experimento incluiu dois tipos de células L929 (fibroblastos da pele de ratos) e RPC-C2A (células da polpa de ratos). A citotoxicidade foi avaliada pela sulforodamine B (SRB), através da análise de colorimetria e hemocitometro com contagem de células após 24 e 48 horas de exposição.

O cimento AH26 mostrou um severo efeito citotóxico enquanto o Top seal e o AH-Plus mostraram um efeito de toxicidade celular reduzido durante o período experimental.

LEONARDO et al., em 1999a, avaliaram a liberação de formaldeído de 4 cimentos endodônticos: AH-26, Endométhasone, AH-Plus e Top Seal. Foi utilizada a análise em espectrofotômetro foram utilizados para determinar o conteúdo de formaldeído do grupo de materiais testados. A análise mostrou que o AH26 e Endométhasone liberaram formaldeído. Quanto ao AH Plus e Top Seal que apresentam a mesma composição química, estes liberaram formaldeído em uma concentração mínima. Concluem os autores que, o AH26 e o Endométhasone liberaram formaldeído após mantidos por 72 horas em temperatura ambiente. Entretanto para o AH-Plus e Top Seal foi observada uma liberação mínima de formaldeído.

LEONARDO et al., em 1999b, avaliaram a citotoxicidade dois tipos diferentes de cimentos endodônticos: AH Plus (resina epóxi) e Fill Canal (cimento à base de óxido de zinco/eugenol). Utilizaram 34 raízes de pré-molares com polpa vital de cães. Após instrumentação, os canais radiculares foram preenchidos com guta-percha e cimento AH-Plus ou Fill Canal, usando-se a técnica clássica de condensação lateral. Após 90 dias sacrificaram os animais e processaram as lâminas que foram coradas com HE., ou tricrômico de Mallory. Células inflamatórias ou áreas de necrose não estiveram presentes no AH-Plus. Os tecidos duros apicalmente formados foram observados em 14 espécimes. O Fill Canal esteve presente com resposta inflamatória com intensidade moderada na região periapical circundando o material.

LEONARDO, RT. et al., em 2000, avaliaram a citotoxicidade de quatro cimentos à base de hidróxido de cálcio: Sealapex, CRCS,Apexit e Sealer 26, e um à base de óxido de

zinco/eugenol: Fill Canal , quanto a microscopia e mudanças morfológicas em macrófagos no peritônio de ratos. A menor toxicidade ocorreu no cimento Fill Canal seguido em ordem crescente de citotoxicidade para o CRCS, Sealer 26, Apexit e Sealapex (o mais citotóxico).

COHEN et al. em 2000, determinaram a citotoxicidade através do teste de difusão em ágar de dois cimentos endodônticos : AH-26 e AH-Plus. O teste de difusão em ágar foi conduzido baseada nos procedimentos descritos na Organização Internacional de Estandardização. A reatividade biológica foi determinada pelas células L929 em fibroblastos de ratos em resposta aos agentes testados. Após 48 horas de observação, as células expostas na cultura para os testes de discos de AH-26 e AH-Plus exibiram severa reatividade (Grau 4). O controle positivo exibiu moderada reatividade (Grau 3). Controle negativo apresenta sem sinal de reatividade (Grau 0). Os testes das amostras de AH-26 e AH-Plus foram considerados citotóxicos e não encontraram o requisito para difusão no ágar. O resultado de citotoxicidade foi semelhante aos citados na literatura tanto para o AH-26 como para o AH-Plus.

SIQUEIRA JR et al.(2000) investigaram o poder de escoamento de diversos cimentos tais como: Kerr Pulp Canal Sealer EWT, Cimento de Grossman, ThermaSeal, Sealer 26, AH-Plus e Sealer Plus. O teste de difusão em ágar foi utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana dos cimentos. No teste do escoamento, os cimentos foram colocados entre duas placas de vidro e sob um peso de 500 gramas. Os diâmetros dos discos formados foram registrados. Todos os cimentos testados mostraram alguma atividade antimicrobiana contra a maioria dos microrganismos. Não houve diferença significativa entre os materiais de atividade antimicrobiana testados ($P>0,05$). Todos os

cimentos fluíram acima da condição deste estudo. Os resultados revelaram que o AH-Plus e o Kerr Pulp Canal Sealer EWT apresentaram valores de escoamento significativamente superior aos demais cimentos testados ($p<0,05$). Dos cimentos testados, todos os achados sugerem que estes cimentos têm potencial para manter sob controle o aspecto microbiano no sistema de canal radicular.

JUKIC et al. em 2000, avaliaram o potencial mutagênico de cimentos endodônticos AH-Plus e AH-26, através do uso da bactéria *Salmonella*. Os materiais foram testados imediatamente após sua mistura, 1 hora e 1 mês após, respectivamente. O dimetil sulfoxido extraído dos cimentos em equivalência de 3.0, 1.5 e 0,75µl / placas foram utilizados. As cepas bacterianas de *Salmonella* foram TA 98 e TA 100. Os resultados mostraram que AH-Plus é mutagênico no sentido de deslocação TA 100 1 hora após a mistura. Um mês após a mistura, a atividade mutagênica foi expressada somente em TA 98. A pasta A mostrou forte mutagenicidade no sentido TA 100. O AH 26 foi mais mutagênico para o TA 100 imediatamente após a mistura, 1 hora e 1 mês após sua polimerização. Também foi mutagênico no sentido TA 98 na condição de polimerizado. Exames posteriores devem conduzir e estabelecer a conclusão definitiva a respeito do potencial mutagênico destes dois cimentos testados.

2.3.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS

BIRAL & NASCIMENTO (1973) analisaram a ação antimicrobiana, pelo método de difusão em ágar, do cimento Fill Canal, e outros cimentos utilizados tais como: óxido de zinco/eugenol, Alphacanal, Diaket-A, Pulp Canal Sealer, Oxpara, Pyocidina com

sulfanilamida e Vedacanal. Utilizaram discos de cada um dos cimentos (6 mm diâmetro x 1.5 mm espessura). Semanalmente estes discos, armazenados em recipientes hermeticamente fechados, eram colocados em Ágar Triptona Soja (TSA) e semeados em coquetel de microrganismos oriundos de canais radiculares infectados. Após 48 h de incubação a 37°C., o Fill Canal mostrou marcada diminuição de atividade antimicrobiana com o passar do tempo.

PUPO (1976) analisando a ação antimicrobiana pelo método de difusão em ágar, dos cimentos de uso endodôntico Fill Canal, Trin canal, Diaket-A, Endométhasone e AH-26, frente a amostras de microrganismos freqüentes em canais radiculares infectados, fez as seguintes observações: a) os cimentos obturadores testados apresentaram variações de atividade antimicrobiana, sendo esta, de um modo geral mais pronunciada nas etapas iniciais; b) o cimento Diaket-A foi o único que apresentou maior atividade antimicrobiana durante os períodos experimentais; c) os cimentos Endométhasone e AH-26 mostraram atividade antimicrobiana frente a todos os microrganismos, apenas quando imediatamente ao seu preparo, porém, com decréscimo acentuado nos períodos subseqüentes.

STEVENS & GROSSMAN (1981) avaliaram o efeito antimicrobiano de alguns cimentos endodônticos. Nove cimentos obturadores de canais radiculares foram testados com relação ao potencial antibacteriano sobre a bactéria anaeróbia *Bacteroides fragilis*. Corpos-de-prova contendo o cimento recém-espaturado foram colocados sobre placas de ágar inoculadas com o microrganismo em teste e após incubação, as zonas de inibição ao crescimento bacteriano foram observadas e medidas. Os resultados mostraram que o AH-26, o N2, o Procosol, o Roth e o cimento de óxido de zinco/eugenol promoveram significativa inibição do crescimento bacteriano. Nos cimentos Diaket, Kerr e Tubli-Seal

ocorreu moderada inibição, não tendo o cimento endodôntico Mynol promovido inibição de crescimento do *Bacteroides fragilis*.

PUPO et al. (1982) avaliaram a atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar dos cimentos endodônticos Fill Canal, Endométhasone e Trin canal sobre culturas puras de bactérias e leveduras e sobre uma microbiota mista de bactérias obtidas de canais radiculares contaminados. Os autores observaram que o Endométhasone, quando ainda na fase plástica, apresentou os maiores halos de inibição. Após a presa, todos os cimentos testados perderam gradualmente sua capacidade anti-séptica. O Endométhasone e o Trin canal perderam esta capacidade de forma brusca, enquanto o Fill Canal diminuiu a sua ação antimicrobiana lentamente, porém sem se demonstrar ativo contra *P. aeruginosa*.

OGATA et al. (1982) avaliaram a ação antimicrobiana de alguns cimentos endodônticos tais como Fill Canal, óxido de zinco/eugenol, Alfacanal, Vedacanal e N-Rickert pelo método de difusão em ágar, usando os seguintes microrganismos: *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus liquefaciens*, *Streptococcus mitis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria* spp., *Bacillus* spp. e *Candida albicans*. Os resultados demonstraram que os maiores halos de inibição, em ordem decrescente, foram produzidos pelo Alfacanal, Vedacanal, Fill-Canal, Óxido de zinco/eugenol e N-Rickert.

PUPO et al. (1983) compararam o efeito antimicrobiano de cinco cimentos (Fill canal, Endométhasone, Trin canal, AH-26 e Diaket-A, utilizando o método de difusão radial em meio ágar, utilizando cultura pura de microrganismos (*Streptococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aerobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*), e uma cultura mista obtida de canais contaminados.

Testaram os cimentos após a espatulação e após a reação de presa, em 3,7,15,30 e 60 dias. Verificaram que o Endométhasone e o Diaket-A, tiveram os maiores halos de inibição pós-espatulação. O Diaket-A, Fill Canal, Trin canal e AH-26 não inibiram *Pseudomonas aeruginosa*. Com o tempo, o Trin canal e o Endométhasone perderam bruscamente o poder anti-séptico. Para o AH26 e Fill Canal a perda foi mais gradual, enquanto que para o Diaket-A ocorreu um aumento da ação anti-séptica sobre alguns microrganismos. Concluíram que a grande ação antimicrobiana do Endométhasone é mais apropriada para complementar a anti-sepsia do canal. Porém, ressaltam que a perda desta ação com o tempo pode favorecer nova contaminação do canal por bactérias da saliva ou, então do sangue durante uma bacteremia.

HUME (1988) descreveu as ações do eugenol quando sozinho ou quando misturado ao óxido de zinco. Citou que quando o óxido de zinco e eugenol é aplicado sobre a superfície dentinária, possui efeito antimicrobiano e com relação ao tecido pulpar as concentrações que atingem-no são baixas, possuindo efeito benéfico como anódino, vasodilatador e inibidor de síntese de prostaglandina. Quando colocado em contato direto com tecido pulpar ou em cultura de células, a quantidade de eugenol liberada é maior, levando a agressões, muitas vezes, irreversíveis das células. Discutiu que quando empregado na composição de materiais obturadores, a resposta dos tecidos apicais é melhor do que no corpo da polpa, porém o extravasamento deve ser evitado para evitar ações neurotóxicas.

ORSTAVIK & MJOR (1988) estudando a ação antimicrobiana de cimentos de uso endodôntico, observaram para o Endométhasone uma rápida perda de atividade e sua inativação pelos fluidos teciduais. Sendo que em 1981, ORSTAVIK estudou a ação

antimicrobiana de vários cimentos sobre *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Cimentos utilizados foram o AH-26, Diaket, Endométhasone, N2, Kerr Pulp Canal Sealer, Procosol e Tubli-Seal. Todos os cimentos apresentaram algum efeito antimicrobiano, principalmente quando recém-preparados. Além disso, os cimentos que contêm paraformaldeído na formulação, como o Endométhasone e o N2, apresentaram atividade antimicrobiana pronunciada mesmo após o endurecimento

CANALDA & PUMAROLA, em 1989, avaliaram *in vitro* utilizando o método de difusão radial em ágar a ação antimicrobiana dos cimentos à base de hidróxido de cálcio (CRCS e Sealapex), à base de óxido de zinco (Tubli-Seal e Endométhasone) e resinoso (AH-26). Os microrganismos utilizados foram o *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Veillonella* spp, *Bacteroides fragilis* e *Candida albicans*. Os halos de inibição foram medidos após 48 e 96 horas de incubação das placas a 37°C em condições de anaerobiose e aerobiose. Verificaram que a ação antimicrobiana dos cimentos que contêm hidróxido de cálcio foi semelhante a dos outros cimentos, com exceção da *Veillonella* spp que não sofreu ação do Sealapex. *Candida albicans* não foi inibida pelo AH26. Os autores observaram também que os maiores halos ocorreu com o Endométhasone que possui paraformaldeído em sua composição.

BARKHORDAR (1989) avaliou a atividade antimicrobiana de dez cimentos endodônticos sobre o *Streptococcus sanguis* e o *Streptococcus mutans*. Os materiais testados pelo método de difusão em ágar foram: AH-26, CRCS, Dentinol, Díaket, Kerr Pulp Canal Sealer, Sealapex, Nogenol, Pulpdent, Tubli-Seal e Endo-Fill. As placas de cultura foram incubadas a 37°C e a verificação da atividade antibacteriana foi realizada após 2, 7 e 14 dias. Os resultados mostraram que todos os materiais obturadores inibiram o

crescimento dos dois microrganismos. As zonas inibitórias foram maiores para o *Streptococcus sanguis* que as do *Streptococcus mutans*, em todos os materiais testados, com exceção do Diaket. O Dentinol, o Kerr Pulp Canal Sealer e o Tubliseal tiveram uma ação inibitória significativamente maior sobre o *Streptococcus sanguis* que os demais cimentos testados. O Diaket teve a maior ação sobre o *Streptococcus mutans*.

AL-KHATIB et al. (1990) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* através de teste de difusão em ágar, de vários cimentos endodônticos: de Grossman, Tubli-Seal, Calciobiotic, Sealapex, Hypocal, Eucapercha, Nogenol e AH-26, além das pastas de hidróxido de cálcio, do hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico e de um tipo de Teflon. Os microrganismos utilizados foram *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e “*Bacteroides endodontalis*”. Logo após a sua espatulação, os cimentos foram colocados nos meios de cultura inoculados com as bactérias em estudo. Depois de vários períodos de incubação (24 e 48 horas, 7 e 35 dias) as zonas de inibição do crescimento bacteriano foram observadas e mensuradas. O cimento de Grossman demonstrou a maior atividade antibacteriana. Contudo, o AH-26 apresentou maior efetividade contra o “*Bacteroides endodontalis*”. Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol demonstraram maior atividade antibacteriana que aqueles à base de hidróxido de cálcio ou a eucapercha.

Em 1992, PUMAROLA et al., testaram a atividade antimicrobiana de vários cimentos usados em Endodontia: Traitment Spad, Endométhasone, N2 Universal, Diaket-A, AH-26 com prata, Tubli-Seal e Sealapex, em 2 tipos de testes: difusão em ágar e diluição em ágar contra 120 cepas de *Staphylococcus aureus*. Obtiveram para o Traitment Spad e Diaket-A, as maiores inibições ao teste de diluição em ágar. Também no teste de

difusão em ágar o mesmo cimento, Traitment Spad, obteve maior halo de inibição, seguido pelo Endométhasone, N2 Universal, AH-26 com prata, Diaket-A, Tubli-Seal e por último o Sealapex (menor halo). Eles relataram que os cimentos à base de OZE, paraformaldeído (Endométhasone) ou resinas apresentaram maior atividade inibitória do que o Sealapex, que teve a menor ação antimicrobiana.

ESTRELA et al. (1995) estudaram a atividade antimicrobiana dos cimentos à base de hidróxido de cálcio: Sealapex, Sealer 26 e Apexit, contra bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas. Nenhum dos cimentos utilizados promoveu halos de inibição de crescimento das bactérias testadas, tanto imediatamente após a manipulação, quanto após 48 horas.

SIQUEIRA JR. & GONÇALVES (1996) avaliaram a atividade antimicrobiana pelo teste de difusão em ágar dos cimentos Sealapex, Sealer 26 e Apexit, à base de hidróxido de cálcio, comparando-o ao Fill Canal, cimento à base de OZE, contra bactérias anaeróbias estritas comumente associadas às infecções endodônticas. Os resultados revelaram que o Fill Canal apresentou a maior atividade inibitória de crescimento. Isto ocorreu devido ao seu conteúdo de zinco e principalmente de eugenol. O Sealer 26 foi o segundo de maior atividade, apenas não sendo eficaz contra *Porphyromonas endodontalis* e *Porphyromonas gingivalis*. Embora contenha hidróxido de cálcio em sua formulação, esta substância não parece ser a principal responsável por tal propriedade do cimento. A hexametilenotetramina, elemento ativador da presa da resina do cimento presente no Sealer 26, se decompõe em meio aquoso em formaldeído e amônia. O formaldeído possui excelente atividade antimicrobiana. O Sealapex apenas apresentou eficácia contra duas espécies bacterianas, enquanto que o Apexit foi inerte.

ABDULKADER et al., 1996, avaliaram os efeitos antibacterianos, através dos testes de difusão em ágar, de cinco cimentos: Apexit, Ketac-Endo, Roth Sealer, Sealapex e Tubli-Seal sobre as bactérias: *Capnocytophaga ochracea*, *Porphyromonas gingivalis* e *Peptostreptococcus micros*. No geral, o cimento Ketac-Endo foi mais eficaz do que o Tubli-Seal, Apexit e Sealapex.

SHALHAV et al. (1997) demonstraram em testes de difusão em ágar e de contato direto, que o cimento Ketac-Endo, quando recentemente preparado, apresentou grande atividade antimicrobiana sobre o *Enterococcus faecalis*. Tal efeito não foi observado nas amostras do cimento preparadas há 24 horas e 7 dias antes do teste. HELING & CHANDLER (1996) relataram que o Ketac-Endo não apresentou efeitos antibacterianos em canais infectados experimentalmente com *Enterococcus faecalis*.

DUARTE et al. (1997) avaliaram o poder antimicrobiano dos cimentos Endométhasone, AH-26, Sealer 26, Sealer 26 acrescido de 5% de hexametilenotetramina, Sealer 26 acrescido de 10% de hexametilenotetramina, Sealapex e pasta aquosa de hidróxido de cálcio através do método de difusão radial em placas de ágar escavadas e cepas puras de microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp. e *Candida albicans*). As leituras foram efetuadas após 24 e 48 horas de incubação em aerobiose e microaerofilia. Os resultados mostraram que o Endométhasone apresentou os maiores halos de inibição do crescimento microbiano e que o acréscimo de hexametilenotetramina acarretou um aumento nos halos proporcionados pelo Sealer 26. O cimento Sealapex e a pasta de hidróxido de cálcio não inibiram os microrganismos testados.

FUSS et al. (1997) estudaram a atividade antibacteriana através do método de contato direto de cimentos à base de hidróxido de cálcio (Sealapex e CRCS), comparados a cimentos à base de OZE (Roth). Cimentos testados foram espatulados dentro de 20 minutos, 24 horas antes da realização dos testes e 7 dias antes. Eles foram depositados então em placas tipo cultura de células onde haviam sido inoculadas suspensões de *Enterococcus faecalis*, ficando as bactérias em contato com cimento por 1 hora a 37°C. Quando recém manipulados os cimentos CRCS e Roth, apresentaram efeito antimicrobiano mais efetivo do que o Sealapex. Após 24 horas de manipulação o cimento Roth, foi o mais efetivo em relação aos dois cimentos à base de hidróxido de cálcio (Sealapex e CRCS). Após 7 dias de manipulação, somente o Sealapex apresentou maior ação antimicrobiana. Concluíram os autores que a atividade antimicrobiana de cada cimento, altera diferentemente com o tempo. Entretanto, segundo os autores, as propriedades biológicas e farmacológicas de um cimento não devem comprometer as propriedades físicas, tais como a estabilidade e o selamento.

KAPLAN et al., em 1999, avaliaram o efeito antimicrobiano *in vitro* de seis cimentos endodônticos após 2, 20 e 40 dias através do método de difusão em ágar. Estudaram os cimentos: Apexit, Endion, AH26, AH Plus, Procosol e Ketac-Endo. Os microrganismos foram: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Actinomyces israelii*. Placas de Petri foram preenchidas com ágar estéril e 0,1 ml foram completamente preenchidos com os cimentos. As placas de ágar foram guardadas por 24 horas a 37°C. As amostras foram então removidas e imersas em 4,5 ml de meio de cultura e divididos em três grupos. As amostras do Grupo 1 foram conservadas por 2 dias a 37°C, enquanto as amostras do Grupo 2 e Grupo 3, conservadas a 4°C por 20 e 40 dias

respectivamente. As amostras foram então removidas e descartadas, e 0,1 ml do meio de cultura foi posto nas placas de Ágar em ordem a realizar contagem das colônias formadas. Apexit, Endion e AH-Plus inibiram *Streptococcus mutans* e aos 20 dias *Actinomyces israelii*. Nenhum halo de inibição foi observado em relação a *Candida albicans* e ao *Staphylococcus aureus*. Ketac Endo somente produziu halo de inibição contra *Actinomyces israelii* de 2 a 40 dias. AH 26 e Procosol mostraram efeito antimicrobiano aos 40 dias sobre a *Candida albicans* e, aos 20 e 40 dias sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, e uma inibição efetiva sobre os *Actinomyces israelii* em todo o intervalo de tempo. Concluíram que ambos cimentos e microrganismos constituíram fatores significantes e afetaram os resultados dos Grupo 2 e do Grupo 3. Assim os cimentos avaliados neste estudo mostraram diferentes efeitos inibitórios em curto período de tempo. Os cimentos contendo eugenol e formaldeído mostraram ser mais efetivo contra os microrganismos em todo o tempo de estudo do experimento.

LEONARDO, M.R. et al., em 2000, avaliaram a atividade antimicrobiana de 4 cimentos: AH-Plus, Sealapex, Ketac-Endo e Fill Canal, e de 2 pastas de hidróxido de cálcio: Calen e Calasept., e uma pasta à base de óxido de zinco. Foram utilizadas 7 cepas bacterianas: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*. Atividade foi avaliada usando-se o método de difusão em ágar com BHI Ágar e meio Mueller Hinton colocados em placas. Os cimentos de hidróxido de cálcio e pastas foram colocados diretamente em escavações de 4.0 x 4.0 mm e em pontas de papel absorvente. As placas foram conservados a uma temperatura ambiente por 2 horas para manter a difusão dos materiais A seguir foram incubadas a 37°C por 24 horas, em meio

otimizado com 0.05 g% TTC gel e halos de inibição foram medidos. Todas cepas bacterianas foram inibidas por todos os materiais testados neste estudo. Entretanto, quando os materiais foram aplicados com pontas de papel absorvente, o *Enterococcus faecalis*, não foi inibido pela pasta de óxido de zinco, e *Pseudomonas aeruginosa* não foi inibida pelo AH-Plus, Fill Canal, e pasta de óxido de zinco. Concluem os autores que os cimentos e pastas testados, tiveram sua atividade antimicrobiana *in vitro* e meio de cultura otimizada com 0.05g% TTC gel, deste modo facilitando a observação dos halos de inibição.

3. PROPOSIÇÃO

Levando-se em consideração a importância da atividade antimicrobiana na eficácia de um cimento endodôntico, quando da obturação de canais radiculares, este trabalho teve por objetivo:

- a) Avaliar a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos, através do método de difusão em ágar;
- b) Avaliar a atividade antimicrobiana dos cimentos pelo contato direto com os microrganismos através da observação da curva de crescimento dos microrganismos em meio líquido;
- c) Verificar a ação dos diferentes cimentos sobre os microrganismos.

Os cimentos utilizados foram: Endo-Fill, Endométhasone, Sealer 26 e AH-Plus, nos seguintes tempos após manipulação: Imediatamente, 24 hs, 48 hs e 7 dias; e os microrganismos utilizados foram: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces naeslundii*.

4.MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. CIMENTOS (ANEXO 1)

Os cimentos obturadores analisados neste trabalho foram:

4.1.1.1. ENDO-FILL (Herpo Produtos Dentários Ltda., Petrópolis-RJ/Brasil).

4.1.1.2. ENDOMÉTHASONE (Specialités-Septodont - Saint Maur – Paris-França)

4.1.1.3. SEALER 26 (Dentsply, Indústria e Comércio Ltda. Petrópolis – Rio de Janeiro / Brasil).

4.1.1.4. AH-PLUS (Dentsply – DeTrey GmbH D-78467, Konstanz – Suíça).

4.1.2. MICRORGANISMOS

4.1.2.1. Levedura

Candida albicans (NTCC 3736)

4.1.2.2. Bactérias Anaeróbias facultativas:

Actinomyces naeslundii (M 104)

Enterococcus faecalis (ATCC 29212)

Streptococcus sanguis (ATCC 10556)

Staphylococcus aureus (ATCC 25923)

4.1.3. MEIOS DE CULTURA (ANEXO 2)

Brain Heart Infusion (BHI) – Oxoid, Unipath Ltda, Basingstoke, UK

Brain Heart Infusion Agar(BHIA)–Oxoid, Unipath Ltda, Basingstoke, UK

Mueller-Hinton Agar (MHA)– Oxoid, Unipath Ltda, Basingstoke, UK

4.2. MÉTODOS

4.2.1. MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR

4.2.1.1. PREPARAÇÃO DO INÓCULO

A atividade antimicrobiana foi realizada pelo método clássico de difusão radial em ágar com algumas modificações (método da camada dupla), e posterior leitura dos halos de inibição de crescimento microbiano.

Os organismos aeróbios e facultativos foram subcultivados em placas de BHI Ágar sangue e incubados por 18-24 h a 37°C em condições atmosféricas (aeróbios) ou em 10% CO₂ (estufa de CO₂ - Jouan, Saint-Herblain, Cédex-França).

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas de aeróbios e facultativos foram suspensas em tubos contendo 5 mL de BHI (Figura 4.1.A). Após agitação mecânica, a suspensão era ajustada em espectrofotômetro com transmitância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0,5 da escala de Mc Farland (1.5×10^8 bactéria/mL). Tal concentração de inóculos foi utilizado por promover crescimento semi-confluente de todos os microrganismos testados (KOO et al. 2000).

4.2.1.2. PREPARO DAS CAMADAS DE ÁGAR

Para avaliar a atividade antimicrobiana das substâncias testadas frente a levedura, (aeróbia) e anaeróbias facultativas foram utilizadas placas de 140 mm de diâmetro. Os testes foram realizados em triplicata em tempos diferentes.

Utilizou-se o método da camada dupla.

Inicialmente foram preparadas as placas contendo 40 mL de MHA que serviram de base para a camada de inóculo (seed), que era preparada a seguir.

Quarenta mL de BHIA eram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, quando o BHIA atingia 45°C, ainda em estado líquido, se adicionava 400µL do inóculo microbiano e se promovia agitação uniforme do conjunto. O BHIA passava a ter, portanto, 1% de inóculo microbiano, era então distribuído sobre a camada sólida de MHA. Aguardava-se então a solidificação do meio de cultura (Figuras 4.1.B,C).

4.2.1.3. PREPARO DOS CIMENTOS A SEREM TESTADOS

Os cimentos endodônticos (Figura 4.3.A), após dosados em balança eletrônica digital, foram espatulados em placas de vidro com espátula de aço inoxidável nº24 estéreis, conforme metodologia descrita por **PUPO (1976)**, definindo-se as proporções para os 2

primeiros cimentos (Endométhasone e Endo-Fill). Sealer 26 e AH-Plus obedeceram a recomendação dos fabricantes.

Endo Fill	1,600 g pó x 0,4 mL líquido (PUPO,1976)
Endométhasone	1,250 g pó x 0,4 mL líquido (PUPO,1976)
Sealer 26	0,39 g pó x 0,13 mL líquido (recomendação do fabricante)
AH-Plus	proporções iguais: pastas A e B (recomendação do fabricante)

Os cimentos foram espatulados por um período de 40 a 60 segundos até obter a homogeneização. Após as espatulações, as misturas foram colocadas no interior dos tubos de inox estéreis de 6 mm de largura interna, 8 mm de largura externa e 10 mm de altura preenchendo-os em altura e diâmetro. Em seguida, com exceção dos cimentos preparados no período de imediato, os demais foram acondicionados em placas de Petri e conservados em estufa à 37°C até o momento do experimento.

4.2.1.4. COLOCAÇÃO DOS TUBOS DE INOX SOBRE A SUPERFÍCIE DO ÁGAR

Após a solidificação dos meios de cultura, cilindros de inox estéreis, foram preenchidos com os cimentos do experimento e dispostos sobre a superfície do ágar (Figura 4.1.D). Foram colocados 6 cilindros (3 para cada tempo após a espatulação), em cada placa com o meio de cultura. As placas mantidas por 2 h. à temperatura ambiente para permitir a difusão dos cimentos na superfície do BHIA.

4.2.1.5. INCUBAÇÃO

As placas foram mantidas a 37°C em condições gasosas apropriadas: levedura (*Candida albicans*) e *Staphylococcus aureus* em estufa de O₂ a 37°C (Figura 4.1.E) por 24 horas. Placas semeadas com *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis* foram colocadas em estufa a 37°C sob fluxo contínuo de 10% de CO₂ (Figura 4.1.F) por 48 horas.

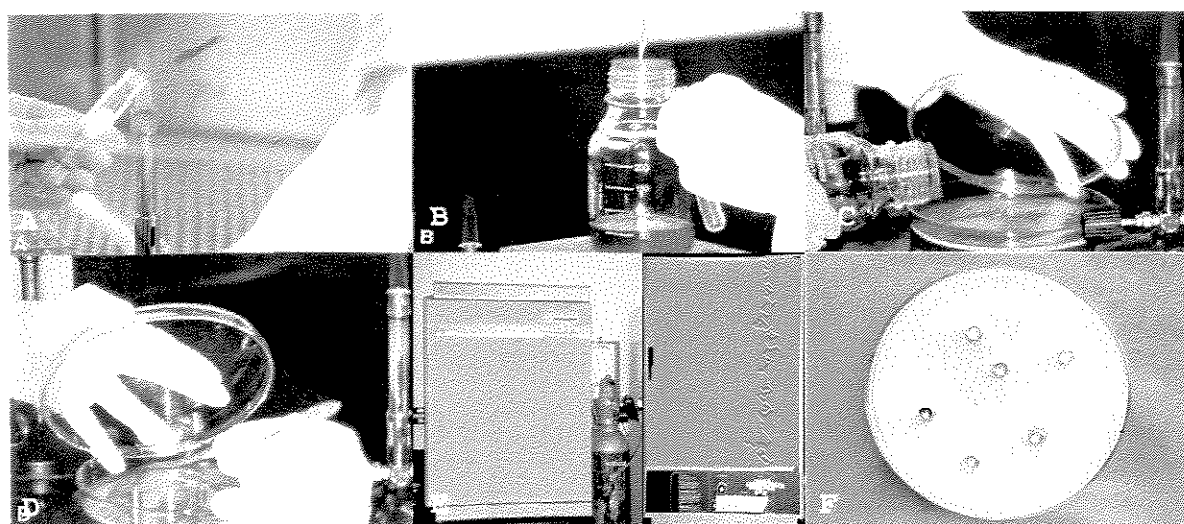


Fig.4.1. A- Suspensão microbiana B-C-Semeadura em profundidade D-Colocação de cilindros de aço inox sobre a camada “seed “ E- Incubação F- Halos de inibição

4.2.1.6. LEITURA DOS HALOS DE INIBIÇÃO

A leitura para organismos tais como *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* foi feita após 24 horas de incubação em estufa de O₂. Enquanto que a leitura para

anaeróbios facultativos: *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis* foi realizada após 48 horas de incubação a 10% de CO₂ (Figura 4.1.G).

Os raios das zonas de inibição microbiana (Figura 4.2.A e B), corresponderam à menor distância entre a superfície externa do cilindro e o início da região de crescimento microbiano, os quais foram medidos com o auxílio de paquímetro milimetrado (Trident, São Paulo, SP/ Brasil).

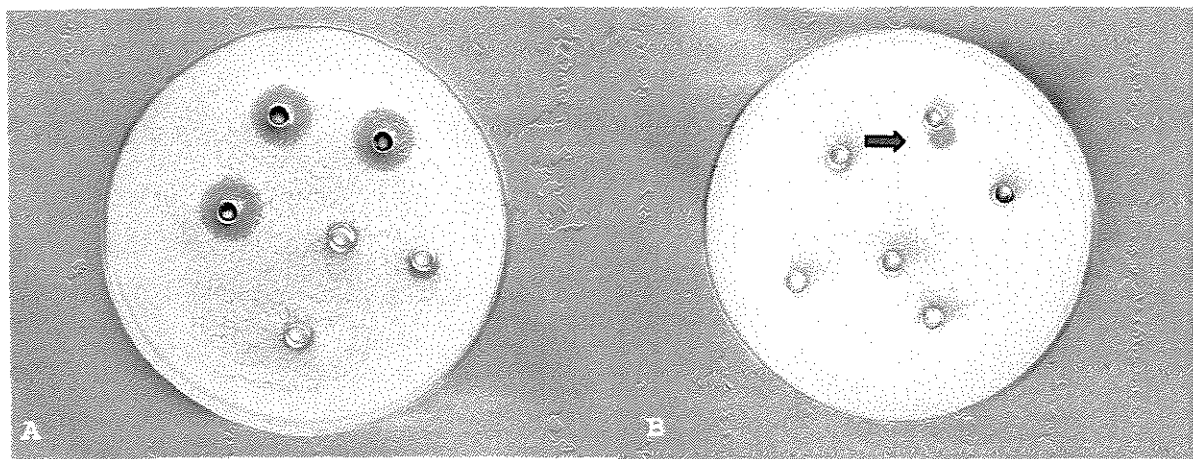


Fig.4.2- A- halos de inibição B- inibição por contato direto (seta) indicando tubo de inox descolado com esta finalidade.

4.2.2. MÉTODO DO CONTATO DIRETO EM MEIO LÍQUIDO, ATRAVÉS DA OBSERVAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO.

4.2.2.1. PREPARO DAS SUSPENSÕES MICROBIANAS

Os inóculos foram preparados de acordo com a metodologia citada no item 4.2.1.1.

Os organismos aeróbios e facultativos foram subcultivados em placas de BHI e incubados por 18-24 h a 37°C em condições gasosas adequadas.

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas de aeróbios e facultativos foram suspensas em tubos contendo 5 mL de BHI. Após agitação mecânica, a suspensão era ajustada em espectrofotômetro (432 FEMTO, Marconi-SP/Brasil) com transmitância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0,5 da escala de Mc Farland (1.5×10^8 bactéria/mL). O volume final da suspensão foi mantida em 5 mL.

4.2.2.2. PREPARO DOS CIMENTOS

Os cimentos foram preparados de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.3 (Figura 4.3.A).

Entretanto, para termos sempre o mesmo volume de cimento, foram utilizadas placas de silicone contendo perfurações de diâmetro 5mm x 4mm de espessura, onde eram inseridos os cimentos até o momento de sua utilização (Figuras 4.3.B,C e D). No experimento, a quantidade de cimento em cada perfuração era equivalente a 0,2 mL (200µL). Tais placas foram adequadamente conservadas a 37°C.

Seringas estéreis de 3 mL foram utilizadas para introduzir 0,2 mL (200µL) do cimento recém preparado nos tubos com BHI contendo ou não suspensão microbiana.

4.2.2.3. LEITURA DA CURVA DE CRESCIMENTO EM BHI LIQUIDO

Nos tubos com o conjunto BHI + inóculo + cimento foram efetuadas leituras no

espectrofotômetro de hora em hora, até a 18ª hora consecutiva (Figuras 4.3.E e F). Nos intervalos da leitura, o conjunto foi mantido em condições gasosas apropriadas.

Procedimento similar de leitura no espectrofotômetro foi realizado no mesmo período, nos tubos de BHI com inóculo, sem a adição dos cimentos obturadores para observarmos apenas a curva de crescimento dos microrganismos.

O valor da Transmitância do padrão Mc Farland 0,5 equivale a 90. Quanto maior o valor da Transmitância, maior é a passagem da luz. Por conseguinte, no nosso experimento isto representa menor crescimento microbiano ou seja, maior atividade antimicrobiana.

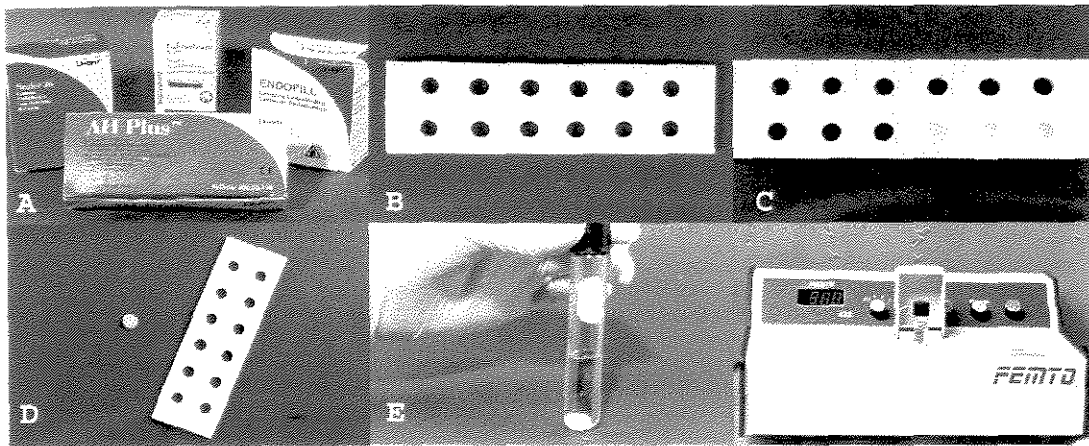


Fig.4.3. A- cimentos B-placa de silicone C- placa de silicone preenchida com cimento D-corpo de prova retirado da placa E- BHI + inóculo + cimento F- leitura em espectrofotômetro.

4.2.2.4. LEITURA DO TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO CONJUNTO: CIMENTO E BHI

Para o conjunto cimentos + BHI, também foram feitas as leituras nos tempos

descritos no item 4.2.2.3 .

4.2.2.5. OBSERVAÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI ágar sangue

De cada tubo contendo BHI + inóculo + cimento, foram retirada de 4 em 4 horas aliquotas de 10 µL as quais foram inoculadas em placas de BHI ágar, contendo 5% de sangue de carneiro desfibrinado. As placas foram então incubadas por 18-24 h a 37°C em condições gasosas adequadas.

Procedimento similar foi realizado com os tubos contendo apenas BHI + inóculo, para constataremos o crescimento microbiano.

Entretanto para tubos contendo BHI + cimento e tubos contendo BHI puro também foram feitas placas apenas para confirmar a manutenção da cadeia asséptica durante a execução dos experimentos.

4.2.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através das médias dos halos (em milímetro) de inibição do cimento em função do microrganismo nas condições de tempo de presa dos cimentos utilizando-se o teste de Kruskal Wallis.

Os resultados obtidos através do método do contato direto em meio líquido para observação da curva de crescimento microbiano foram analisados estatisticamente utilizando o teste ANOVA (Statistics for Windows - Version 5.1. Stat Soft Inc., 1997).

5. RESULTADOS

5.1. MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR

Tabelas 3.1.1 a 3.1.4 (Anexo 3) e Quadro 5.1.1 mostram a atividade antimicrobiana de todos os cimentos testados em todos os tempos após manipulação.

5.1.1. CIMENTOS X MICRORGANISMOS

Quadro 5.1.2 mostra a atividade antimicrobiana de cada cimento contra todos os microrganismos testados, através da média dos halos de inibição, em milímetros, nos quatro tempos avaliados.

O cimento que teve maior zona de inibição contra todos os microrganismos testados foi o Endo-Fill ($n = 1,07$ mm), seguido do Endométhasone ($n = 0,99$ mm). Por outro lado o Sealer 26 foi o que teve menor zona de inibição ($n = 0,06$ mm)

5.1.2. MICRORGANISMOS X CIMENTOS

C. albicans ($n = 0,88$ mm) apresentou maior média da zona de inibição frente à todos os cimentos testados seguido de *A. naeshundii* ($n = 0,75$ mm) enquanto *E. faecalis* ($n=0,20$ mm) teve menor média da zona de inibição (Quadro 5.1.2).

Quadro 5.1.1 Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos (média das zonas de inibição em mm) – Método de difusão em agar

Tempo de manipulação / Microrganismos	CIMENTOS			
	Endo-Fill	Endométhasone	Sealer 26	AH-Plus
Imediato				
<i>C. albicans</i>	2,6	3,3	0*	1,0
<i>A. naeshlundii</i>	3,2	3,5	0,3	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	3,3	0*	0*
<i>S. aureus</i>	1,0	5,3	1,0	1,3
<i>S. sanguis</i>	2,0	3,0	0*	1,8
24 horas				
<i>C. albicans</i>	2,3	0,7	0*	1,0
<i>A. naeshlundii</i>	2,3	0*	0*	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. aureus</i>	0*	0,7	0*	0*
<i>S. sanguis</i>	1,5	0*	0*	0*
48 horas				
<i>C. albicans</i>	1,6	0*	0*	0,5
<i>A. naeshlundii</i>	1,5	0*	0*	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. aureus</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. sanguis</i>	1,0	0*	0*	0*
7 dias				
<i>C. albicans</i>	1,2	0*	0*	0*
<i>A. naeshlundii</i>	1,2	0*	0*	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. aureus</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. sanguis</i>	0*	0*	0*	0*

* inibição somente por contato direto

Quadro 5.1.2. Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos (média dos 4 tempos das zonas de inibição em mm) – Método de difusão em ágar

Microrganismos	Cimentos				Média da zona de inibição de cada microrganismo contra todos os cimentos testados
	Endo-Fill	Endométhasone	Sealer 26	AH Plus	
<i>C. albicans</i>	1,92	1,00	0*	0,62	0,88
<i>A. naeshundii</i>	2,05	0,87	0,07	0*	0,75
<i>E. faecalis</i>	0*	0,82	0*	0*	0,20
<i>S. aureus</i>	0,25	1,50	0,25	0,32	0,58
<i>S. sanguis</i>	1,12	0,75	0*	0,45	0,58
Média da zona de inibição de cada cimento contra todos os microrganismos	1,07	0,99	0,06	0,28	

* inibição somente por contato direto

5.2. Método do contato direto em meio líquido

Os resultados obtidos através do método do contato direto em meio líquido para observação da curva de crescimento microbiano foram analisados estatisticamente utilizando o teste ANOVA. A significância foi estabelecida em níveis de 1% e 5 %.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo que a parcela foi constituída pelo fatorial 4 x 5 x 4, respectivamente, cimento, bactéria e tempo de manipulação, e a subparcela pelos tempos de crescimento: inicial, 9 h e 18h.

A análise da variância revelou efeitos significativos ($P < 0,01$), para todos os efeitos principais estudados e para as interações .

5.2.1. CIMENTO X MICRORGANISMO

Ao estudar o efeito do cimento em cada microrganismo, verificou-se que nos microrganismos *Actinomyces naeslundii* e *Staphylococcus aureus*, o cimento Endo-Fill tem maior valor de "T" (Transmitância), isto é, maior atividade antimicrobiana ($P < 0,05$) em relação ao Sealer 26 (Tabelas 5.2.1.1 e 5.2.1.2).

Para o microrganismo *Enterococcus faecalis* não houve diferenças significativas entre os cimentos estudados (Tabela 5.2.1.3). Para o microrganismo *Streptococcus sanguis* os cimentos Endo-Fill e Endométhasone tiveram maior valor de "T" (Transmitância) ou seja maior atividade antimicrobiana ($P < 0,05$) sobre os demais, sendo que esses cimentos não diferiram entre si ($P < 0,05$) (Tabela 5.2.1.4). Para *Candida albicans* o cimento

Endométhasone obteve maior atividade antimicrobiana em relação ao Sealer 26 ($P < 0,05$) (Tabela 5.2.1.5).

Quadro 5.2.1 mostra a média da atividade antimicrobiana de todos os cimentos testados contra todos os microrganismos. O cimento com maior atividade antimicrobiana foi o Endo-Fill, seguido do Endométhasone. O de menor atividade antimicrobiana foi o Sealer 26.

Tabela 5.2.1.1. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Actinomyces naeslundii*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	12	49,66	a
2	3	ENDOMETHASONE	12	46,87	ab
3	1	AH-PLUS	12	41,34	ab
4	2	SEALER 26	12	34,04	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.2. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Staphylococcus aureus*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	12	66,61	a
2	1	AH-PLUS	12	60,87	a
3	3	ENDOMETHASONE	12	54,29	ab
4	2	SEALER 26	12	40,77	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.3. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Enterococcus faecalis*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	12	54,69	a
2	4	ENDO-FILL	12	36,79	a
3	1	AH-PLUS	12	35,94	a
4	2	SEALER 26	12	32,80	a

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.4. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Streptococcus sanguis*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	12	72,49	a
2	3	ENDOMETHASONE	12	62,61	a
3	1	AH-PLUS	12	47,66	b
4	2	SEALER 26	12	39,76	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.5. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação a *Candida albicans*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	12	58,89	a
2	4	ENDO-FILL	12	51,87	ab
3	1	AH-PLUS	12	50,81	ab
4	2	SEALER 26	12	40,70	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 14,13487 - D.M.S. 1% = 17,56668

Quadro 5.2.1 Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos (média dos 4 tempos) – *Método de contato direto*

Microrganismos	Cimentos				Média da inibição do crescimento de cada microrganismo contra todos os cimentos testados
	Endo-Fill	Endométhasone	Sealer 26	AH Plus	
<i>C. albicans</i>	51,87	58,89	40,70	50,81	50,57
<i>A. naeslundii</i>	49,62	46,87	34,04	41,34	42,97
<i>E. faecalis</i>	36,79	45,69	32,80	35,94	37,80
<i>S. aureus</i>	66,61	54,29	40,77	60,87	55,63
<i>S. sanguis</i>	72,49	62,61	39,76	47,66	55,63
Média de inibição de cada cimento contra todos os microrganismos	55,48	53,67	37,61	47,32	

Maior média = maior valor de “T” (Transmitância)= < crescimento microbiano

5.2.2. MICRORGANISMOS X CIMENTOS

Estudando-se o efeito do microrganismo para cada tipo de cimento, independente do tempo após manipulação, verificou-se que no cimento AH-Plus, o microrganismo *Staphylococcus aureus* obteve um menor crescimento em relação aos microrganismos *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis*, e estes não diferiram ($P < 0,05$) entre si (Tabela 5.2.2.1).

No cimento Sealer 26 não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os microrganismos estudados (Tabela 5.2.2.2).

No cimento Endométhasone, *Streptococcus sanguis* obteve um menor crescimento ($P < 0,05$) em relação ao *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.2.3).

No cimento Endo-Fill, *Streptococcus sanguis* cresceu menos ($P < 0,05$) que *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.2.4).

Quadro 5.2.1 mostra a média da atividade antimicrobiana de todos os cimentos testados contra todos os microrganismos. Microrganismo mais resistente foi o *E. faecalis* e os mais sensíveis foram *S. sanguis* e *S. aureus*.

Tabela 5.2.2.1. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para AH Plus

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	60,87	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	50,81	ab
3	4	<i>S. sanguis</i>	12	47,66	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	41,34	b
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	35,94	b

Tabela 5.2.2.2 Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para Sealer 26

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	40,77	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	40,70	a
3	4	<i>S. sanguis</i>	12	39,76	a
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	34,04	a
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	32,80	a

Tabela 5.2.2.3. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para Endométhasone

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	62,61	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	58,89	ab
3	3	<i>S. aureus</i>	12	54,29	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	46,87	b
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	45,69	b

Tabela 5.2.2.4. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para Endo-Fill

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	72,49	a
2	3	<i>S. aureus</i>	12	66,61	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	12	51,87	bc
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	49,62	cd
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	36,79	d

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 15,06139 - D.M.S. 1% = 18,44872

5.2.3. CIMENTO X TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO

O desdobramento da interação do cimento nos tempo de crescimento, verificou-se que no tempo de crescimento 1 (1ª hora) o Endométhasone foi o que mais inibiu o crescimento microbiano ($P < 0,05$), enquanto que o Sealer 26 foi o que menos inibiu (Tabela 5.2.3.1).

No tempo de crescimento de 9 horas, o Sealer 26 foi o que teve menor ação antimicrobiana ($P < 0,05$) em relação aos demais cimentos, os quais não diferiram entre si ($P > 0,05$) (Tabela 5.2.3.2).

No tempo de crescimento das 18 horas, os cimentos Endo-Fill e o Endométhasone não diferiram ($P < 0,05$) entre si e tiveram uma maior ação antimicrobiana em relação aos demais. O Sealer 26 foi o que demonstrou maior crescimento microbiano em relação aos demais (Tabela 5.2.3.3) e Tabelas 3.2.1.1. 1 a 3.2.1.4.5 (Anexo).

Tabela 5.2.3.1. Teste de Tukey para médias de inibição de crescimento microbiano no período de 1 hora

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	20	82,01	a
2	4	ENDO-FILL	20	80,98	ab
3	1	AH-PLUS	20	79,19	ab
4	2	SEALER 26	20	73,73	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.3.2. Teste de Tukey para médias de inibição de crescimento microbiano no período de 9 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	20	45,96	a
2	3	ENDOMETHASONE	20	44,50	a
3	1	AH-PLUS	20	38,15	a
4	2	SEALER 26	20	23,59	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.3.3. Teste de Tukey para médias de inibição de crescimento microbiano no período de 18 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	20	39,84	a
2	3	ENDOMETHASONE	20	34,50	a
3	1	AH-PLUS	20	24,63	b
4	2	SEALER 26	20	12,52	c

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 8,07099 - D.M.S. 1% = 9,87663

5.2.4. TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO X CIMENTOS

Ao estudar o tempo de crescimento microbiano dentro dos cimentos ocorreu um efeito quadrático ($P < 0,01$) do tempo de crescimento, indicando uma (variável) mínima às 17 horas para o cimento AH-Plus, 15 horas, para o Sealer 26 e para o Endo-Fill e Endométhasone o ponto mínimo foi de 16 horas (Figuras 3.2.3.1.1 - 3.2.3.1.4 -Anexo)

5.2.5. MICRORGANISMO X TEMPO DE CRESCIMENTO (SEM CIMENTO)

Analisando o tempo de crescimento de cada microrganismo, temos que no tempo de crescimento 1 (1ª hora), o microrganismo *Staphylococcus aureus* teve menor crescimento em relação ao *Actinomyces naeshundii* e *Streptococcus sanguis* ($P < 0,05$) (Tabela 5.2.5.1.).

No tempo de crescimento 9 horas, o microrganismo *Streptococcus sanguis* teve menor crescimento em relação à *Actinomyces naeshundii* e *Enterococcus faecalis* ($P < 0,05$), sendo este último inferior no tempo de crescimento (Tabela 5.2.5.2.).

No tempo de 18 horas o microrganismo *Streptococcus sanguis* foi o que teve menor crescimento ($P < 0,05$) em relação ao *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.5.3.).

Tabela 5.2.5.1. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano no tempo de 1 hora

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	16	85,74	a
2	5	<i>C. albicans</i>	16	80,14	ab
3	2	<i>E. faecalis</i>	16	79,91	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	16	75,06	b
5	4	<i>S. sanguis</i>	16	74,03	b

Tabela 5.2.5.2. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano no tempo de 9 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	16	53,07	a
2	3	<i>S. aureus</i>	16	48,15	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	16	41,99	b
4	1	<i>A. naeslundii</i>	16	29,47	c
5	2	<i>E. faecalis</i>	16	17,57	d

Tabela 5.2.5.3. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano no tempo de 18 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	16	39,78	a
2	3	<i>S. aureus</i>	16	33,01	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	16	29,57	b
4	1	<i>A. naeslundii</i>	16	24,37	bc
5	2	<i>E. faecalis</i>	16	15,94	c

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 9,59279 - D.M.S. 1% = 11,56291

5.2.6. CIMENTO X TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO

Desdobrando-se a interação cimento dentro de cada tempo de manipulação (imediato, 24 h, 48 h e 7 dias), verificou-se que no tempo testemunha (imediato), os cimentos Endo-Fill e o Endométhasone obtiveram maior atividade antimicrobiana ($P < 0,05$) aos demais e estes últimos não diferiram entre si ($P > 0,05$), e o Sealer 26 foi o inferior (Tabela 5.2.6.1). Nos outros tempos não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os cimentos estudados (Tabelas 5.2.6.2 - 5.2.6.4).

Tabela 5.2.6.1. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo imediato

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	15	75,01	a
2	4	ENDO-FILL	15	66,93	a
3	1	AH-PLUS	15	51,43	b
4	2	SEALER 26	15	20,42	c

Tabela 5.2.6.2. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo de 24 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	15	55,63	a
2	3	ENDOMETHASONE	15	51,28	a
3	1	AH-PLUS	15	48,27	a
4	2	SEALER 26	15	46,05	a

Tabela 5.2.6.3. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo de 48 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	15	49,97	a
2	1	AH-PLUS	15	45,48	a
3	3	ENDOMETHASONE	15	44,97	a
4	2	SEALER 26	15	42,36	a

Tabela 5.2.6.4. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo de 7 dias após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	15	49,39	a
2	1	AH-PLUS	15	44,11	a
3	3	ENDOMETHASONE	15	43,41	a
4	2	SEALER 26	15	41,63	a

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 12,64262 - D.M.S. 1% = 15,71211

5.2.7. TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS

O estudo do tempo após manipulação dentro do cimento AH-Plus verificou-se que não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre a manipulação imediata e cada um dos outros tempos (Tabela 5.2.7.1).

Nos demais cimentos a testemunha diferiu significativamente ($P<0,05$) de cada tempo (Tabelas 5.2.7.2- 5.2.7.4).

Ao estudar o efeito dos tempos 24, 48h e 7dias dentro de cada cimento, verificou-se que não houve diferenças significativas entre os tempos estudados (Tabelas 5.2.7.1 -5.2.7.4).

Tabela 5.2.7.1. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de AH Plus em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	51,43		
2	4	24 h	15	48,27	NS	NS
3	3	48 h	15	45,48	NS	NS
4	2	7 dias	15	44,11	NS	NS

Tabela 5.2.7.2. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de Sealer 26 em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	20,42		
2	2	24 h	15	46,05	**	**
3	3	48 h	15	42,36	**	**
4	4	7 dias	15	41,63	**	**

Tabela 5.2.7.3. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de Endomethasone em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	75,01		
2	2	24 h	15	51,28	**	**
3	3	48 h	15	44,97	**	**
4	4	7 dias	15	43,41	**	**

Tabela 5.2.7.4. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de Endo-Fill em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	66,93		
2	2	24 h	15	55,63	**	NS
3	3	48 h	15	49,97	**	**
4	4	7 dias	15	49,39	**	**

** Tratamentos que diferem da testemunha (tempo imediato)

NS – Tratamentos que não diferem da testemunha

D.M.S. 5%= 10,02257 D.M.S. 1%= 13,31342

5.2.8. MICRORGANISMOS X TEMPO DE MANIPULAÇÃO

Ao estudar microrganismo dentro do tempo de manipulação imediata verificou-se que o microrganismo *Staphylococcus aureus* teve menor crescimento em relação aos microrganismos *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis* ($P<0,05$), sendo que esses últimos não diferiram entre si ($P>0,05$) (Tabela 5.2.8.1).

No tempo 24 horas após manipulação os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sanguis* tiveram menor crescimento ($P<0,05$) em relação ao *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.8.2.).

Nos tempos 48 horas e 7 dias após manipulação, o microrganismo *Streptococcus sanguis* foi o que teve menor crescimento, diferindo do *Enterococcus faecalis* ($P<0,05$) (Tabelas 5.2.8.3-5.2.8.4).

Estudando-se o tempo dentro dos microrganismos, verificou-se que não houve diferenças significativas ($P>0,05$) do tempo de manipulação imediato com cada um dos demais tempos para os microrganismos *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis*. Entretanto para *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* o imediato diferiu significativamente ($P<0,05$) somente para o tempo 24 horas (Tabelas 5.2.8.1.-5.2.8.4).

Tabela 5.2.8.1. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo imediato

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	70,05	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	56,97	ab
3	4	<i>S. sanguis</i>	12	50,81	b
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	46,97	b
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	42,44	b

Tabela 5.2.8.2. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo de 24 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	60,21	a
2	4	<i>S. sanguis</i>	12	59,57	a
3	5	<i>C. albicans</i>	12	54,80	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	40,09	bc
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	36,87	c

Tabela 5.2.8.3. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo de 48 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	56,96	a
2	3	<i>S. aureus</i>	12	47,12	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	12	45,55	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	42,27	ab
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	36,38	b

Tabela 5.2.8.4. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo 7 dias após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	55,18	a
2	3	<i>S. aureus</i>	12	45,17	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	12	44,75	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	42,54	ab
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	35,52	b

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 15,06139 - D.M.S. 1% = 18,44872

5.2.9. DISSOLUÇÃO DOS CIMENTOS.

O delineamento usado foi o inteiramente ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo que a parcela foi constituída pelo fatorial 4 x 4 , respectivamente, cimento e tempo, e a subparcela pelos tempos de crescimento (0, 9 e 18 horas).

A análise da variância revelou efeito significativo ($P < 0.01$) somente do Tempo de Dissolução, apesar do Sealer 26 ter mostrado um valor menor que os demais.

A análise da regressão indicou um efeito linear negativo ($b = -1,4049683$) ($P < 0.01$) da (variável) sobre o tempo de crescimento. Não ocorreram diferenças significativas ($P > 0.01$) entre os cimentos e o tempo de manipulação (imediato, 24 h, 48 h, e 7 dias) (Tabela 5.2.9.1) e (Tabelas 3.2.2.1 a 3.2.2.4 e Figura 3.2.5.1. - Anexo).

Tabela 5.2.9.1. Teste de Tukey para média de dissolução dos cimentos

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	AH-PLUS	12	91,67	a
2	1	ENDO-FILL	12	84,99	a
3	2	ENDOMETHASONE	12	82,07	a
4	3	SEALER 26	12	67,15	a

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 43,89101 - D.M.S. 1% = 60,33625

5.2.10. CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI-ÁGAR-SANGUE

As Tabelas 5.2.10.1. - 5.2.10.4 mostram o crescimento microbiano em placas de BHI-ágar sangue dos cimentos testados frente aos microrganismos estudados.

O crescimento microbiano em placas de BHI-ágar-sangue foi positivo quando o teste de transmitância foi baixo, ou seja houve pouca inibição de crescimento microbiano. Por outro lado, quando foi negativo estava relacionado a altos valores de transmitância.

Tabela 5.2.10.1. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI - ágar – sangue no cimento Endo-Fill x microrganismos.

ENDO-FILL													
Placas Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. naeslundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

Tabela 5.2.10.2. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI ágar-sangue no cimento Endométhasone x microrganismos.

ENDOMETHASONE												
Placas/ Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. naeslundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

Tabela 5.2.10.3. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI-ágar -sangue no cimento Sealer 26 x microrganismos.

SEALER 26													
Placas Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nueslundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

Tabela 5.2.10.4. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI - ágar -sangue no cimento AH-Plus x microrganismos.

AH-PLUS												
Placas Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	2	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nosterlundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

5.3. MÉTODO DE DIFUSÃO NO ÁGAR X MÉTODO DO CONTATO DIRETO

O Quadro 5.3.1 confronta a atividade antimicrobiana entre os métodos utilizados. Pudemos observar que o cimento Endo-Fill foi o que teve maior ação antimicrobiana em ambas as metodologias em relação aos microrganismos *Actinomyces naeslundii* e o *Streptococcus sanguis*.

Quadro 5.3.1. Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos x microrganismos aeróbios e facultativos. – Método de difusão em ágar x Contato direto

<i>C. albicans</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	1,92	51,87	NS
Endométhasone	1,0	58,89	NS
Sealer 26	0	40,70	NS
AH Plus	0,62	50,81	NS
<i>A. naeslundii</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	2,05	49,62	NS
Endométhasone	0,87	46,87	NS
Sealer 26	0,07	34,04	NS
AH Plus	0	41,34	NS
<i>E. faecalis</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	0	36,79	NS
Endométhasone	0,82	45,69	NS
Sealer 26	0	32,80	NS
AH Plus	0	35,94	NS
<i>S. aureus</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	0,25	66.61	NS
Endométhasone	1,50	54.29	NS
Sealer 26	0,25	40.77	NS
AH Plus	0,32	60.87	NS
<i>S. sanguis</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	1,12	72.49	NS
Endométhasone	0,75	62.61	NS
Sealer 26	0	39.76	NS
AH Plus	0,45	47.66	NS

de uma inflamação mais severa (FABRICIUS et al. 1982; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991; HASHIOKA et al, 1992)

Assim, quando a lesão de cárie destrói quantidade suficiente de tecido dentinário, a polpa torna-se então exposta diretamente a microrganismos e seus produtos, presentes tanto na lesão cariosa quanto na saliva. Uma miríade de espécies bacterianas passa a colonizar a superfície da polpa exposta. Segundo HOSHINO et al., (1992), em dois terços dos casos (6/9) bactérias presentes nas lesões profundas de cárie de dentina, foram capazes de invadir a polpa. Em resposta, a polpa torna-se inflamada. Se o tecido pulpar irá permanecer inflamado por um longo período de tempo ou se irá sucumbir, necrosando, dependerá dos seguintes fatores: número e virulência dos microrganismos; resistência do hospedeiro; estado da microcirculação; e grau de drenagem do edema gerado durante a inflamação (MÖLLER et al., 1981).

Com a exposição da cavidade pulpar, a densidade bacteriana e o número de bactérias elevado, o tecido pulpar passa então a ser afetado por maiores concentrações de produtos bacterianos tóxicos. Desta forma, a porção tecidual em contato direto com o agente agressor sofre alterações inflamatórias severas, culminando com sua necrose. Esta área de tecido necrosado não oferece qualquer resistência à invasão bacteriana, que se dá por meio de proliferação celular. Uma vez que avançaram apicalmente na polpa, bactérias passam a agredir a porção tecidual subjacente. Este passará pelos mesmos fenômenos já descritos, sofrendo necrose. Depreende-se, então, que os processos de inflamação, necrose e invasão bacteriana avançam gradualmente pelo tecido pulpar em direção apical (MÖLLER et al., 1981; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991).

NAGAOKA et al., (1995) observaram que a polpa dental pode ser infectada mesmo quando ainda isolada por 0.2 mm de dentina. A infecção, no entanto, depende da condição pulpar. Polpas sadias podem eliminar infecções transitórias de algumas poucas bactérias pois, prolongamentos odontoblásticos, matriz extracelular e fluido dentinário dificultam a penetração bacteriana nos túbulos dentinários dos dentes vitalizados. Entretanto, se os mecanismos de defesa da polpa estiverem comprometidos, mesmo poucos organismos são capazes de causar infecção.

NISSAN et al., (1995), demonstraram que a endotoxina, fator de virulência de alto peso molecular liberado por bactérias Gram-negativas, pode se difundir pela dentina e alcançar a polpa. A difusão de produtos bacterianos pela dentina induz alterações inflamatórias no tecido pulpar.

Assim, a intensidade da resposta inflamatória pulpar sob uma área de dentina cariada pode ser influenciada pela virulência microbiana, pela concentração que os produtos bacterianos atingem na polpa, pela duração da agressão e pelo estado geral de saúde da polpa. Se o dente é tratado por remoção da cárie e restauração adequada, a polpa volta ao normal (NAGAOKA et al., 1995).

Por outro lado, a polpa pode encontrar-se debilitada como resultado de um processo carioso de longa duração, envolvimento periodontal, envelhecimento ou trauma. Nestas circunstâncias, a inflamação pulpar pode ser mais deletéria, pois há uma predisposição para o acúmulo de produtos bacterianos tóxicos no tecido (NAGAOKA et al., 1995).

Se a cárie não for tratada convenientemente, microrganismos inevitavelmente alcançarão o tecido pulpar, estabelecendo um contato direto e induzindo o desenvolvimento

A polpa também pode tornar-se exposta após trauma ou por procedimentos iatrogênicos. Uma polpa vital, sadia, exposta por trauma, apresenta uma grande resistência à invasão bacteriana, a qual ocorre lentamente. Por exemplo: quando uma lesão traumática resulta em exposição da polpa e esta permanece exposta à saliva por duas semanas, a necrose pulpar e a invasão bacteriana usualmente irão restringir-se apenas a uma extensão de 2 mm (BAUMGARTNER , 1996). Uma polpa exposta por trauma e que tenha permanecido até 48 horas em contato com a microbiota da cavidade oral é ainda passível de recuperação por meio de capeamento direto. Se o período de exposição excede 48 horas, considera-se a porção superficial da polpa já infectada, requerendo um tratamento mais invasivo, como pulpotomia ou tratamento endodôntico radical.

A exposição iatrogênica da polpa não oferece maiores problemas se ocorrer de forma asséptica. Contudo, se houver contaminação pela saliva ou pelo próprio instrumento que promoveu a exposição (por exemplo, brocas contaminadas por cárie), a resposta da polpa dependerá do número e virulência dos microrganismos introduzidos; do seu estado de saúde; e do tratamento e medidas restauradoras a serem instituídos. (SIQUEIRA JR. et al., 1996)

CANAIS LATERAIS, ACESSÓRIOS, DELTAS E FORAME APICAL

Durante o curso de uma doença periodontal, bactérias e seus produtos presentes na bolsa podem ter acesso à polpa via forames laterais associados a ramificações do canal (canal lateral), túbulos dentinários e forame apical (LANGELAND et al., 1977).

Canais laterais estão presentes em cerca de 27,4% dos dentes, sendo mais freqüentes em pré-molares e molares, mormente na região mais apical (De DEUS, 1975).

Túbulos dentinários podem estar expostos em 10% dos casos na região cervical do dente por ausência de coaptação entre esmalte e cimento (TEN CATE, 1988). Além disso, os túbulos podem ainda ser expostos por perda do envoltório de cimento, oriundo da necrose e/ou reabsorção deste tecido, ou de sua remoção por procedimentos periodontais. A exposição de forames laterais e túbulos dentinários às bactérias da bolsa não parece induzir maiores alterações no tecido pulpar, desde que este esteja em estado de vitalidade. Alterações degenerativas, como calcificações, fibrose e produção de dentina reparadora, podem ser observadas na porção pulpar adjacente a um forame lateral exposto.

Entretanto, existem fortes evidências de que a total desintegração do tecido pulpar, caracterizada por necrose, apenas quando a doença periodontal atinge o forame apical. Nesses casos o feixe vâsculo-nervoso principal que penetra pelo forame apical pode ser lesado, havendo necrose pulpar. Destarte, a invasão bacteriana pelo forame fica facilitada, uma vez que a polpa não tem mais como combatê-la (LANGELAND et al., 1977; KIRYU et al., 1994).

KOBAYASHI et al., 1990, examinando 15 dentes com necrose pulpar associada a bolsas periodontais de 6 a 12 mm de profundidade, que atingiam o forame apical coletaram amostras microbiológicas tanto da polpa quanto da bolsa. Eles verificaram que o predomínio de anaeróbios estritos foi mais pronunciado no canal do que na bolsa periodontal. Várias espécies bacterianas dos gêneros *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* e *Prevotella* foram comuns a ambos os sítios. KURIHARA et al., 1995, também realizaram um estudo desta natureza e verificaram que enquanto na bolsa periodontal o número de espécies bacterianas isoladas era elevado, no canal radicular este número era reduzido. As espécies que predominaram na bolsa nem

sempre foram as mesmas que predominaram no canal do mesmo dente. Isto pode ser facilmente explicado pelas diferenças de nichos ecológicos. Ambos os estudos citados sugeriram que a causa da infecção pulpar foi a doença periodontal.

ANACORESE HEMATOGÊNICA

Este fenômeno pode ser definido como a atração que tecidos inflamados, debilitados ou necrosados exercem sobre bactérias presentes na circulação sangüínea durante uma bacteremia transitória. Estas bactérias passam a colonizar estes tecidos alterados, estabelecendo, assim, um processo infeccioso (TZIAFAS, 1989).

Evidências sugerem que esta via de infecção da polpa pode ocorrer, como, por exemplo, nos casos de dentes traumatizados que, mesmo sem apresentarem exposição pulpar, podem desenvolver uma infecção na polpa e conseqüente lesão perirradicular (DEBELIAN et al., 1995; BAUMGARTNER & FALKLER, 1991).

Ocorrido o trauma, o feixe vâsculo-nervoso que penetra pelo forame apical pode ser rompido, resultando em necrose pulpar. Se a necrose permanece estéril, não há o desenvolvimento de uma patologia perirradicular. Contudo, o trauma pode acarretar uma lesão no ligamento periodontal, rompendo vasos sangüíneos, o que é caracterizado clinicamente pela hemorragia sulcular. Bactérias que colonizam o sulco gengival podem, então, ter acesso à corrente sangüínea pelo rompimento desses vasos, ocorrendo uma bacteremia. Se o trauma também promove a ruptura de vasos sangüíneos ao nível apical, a polpa é afetada. Bactérias na corrente sangüínea deixarão os vasos nesta região, podendo encontrar na polpa afetada condições propícias para se estabelecerem. Outrossim, bactérias

da microbiota normal do intestino têm sido isoladas de canais radiculares. Estas podem ser veiculadas no canal pelo profissional, durante a execução da terapia endodôntica sem adequados cuidados de assepsia (ENGSTRÖM, 1964; HAAPASALO et al., 1983; SIREN et al., 1997), ou ser oriundas de uma bacteremia (DEBELIAN et al., 1995, 1997).

Embora essa via seja possível, a hipótese mais verossímil para explicar a infecção pulpar em dentes traumatizados pode ser outra. Quando acometido por um traumatismo, o esmalte dental pode apresentar rachaduras e/ou fissuras, ou acentuá-las (se já existentes), que expõem a dentina em extensões de profundidades variáveis. Tais defeitos são, na maioria das vezes, imperceptíveis clinicamente. Por eles, bactérias podem invadir os túbulos dentinários expostos, os quais não oferecem maior resistência, uma vez que o seu conteúdo encontra-se necrosado e sem função, como resultado da necrose pulpar advinda do trauma (WITTGOW & SABISTON, 1975; SUNDQVIST, 1976). Se a injúria traumática não afetar a vitalidade pulpar, bactérias não conseguirão invadir os túbulos e, desta forma, alcançar a polpa.

INFECÇÃO EXTRA RADICULAR

O progresso científico dos estudos microbiológicos revolucionou, também, o conceito antigo de que os granulomas dentários eram estéreis, e que nos tecidos periapicais esses microrganismos não tinham condições de sobrevivência (TRONSTAD et al., 1987).

Em 1974, SABISTON JR & GOLD, cultivando os microrganismos de abscessos dento-alveolares agudos, identificaram os mesmos como sendo anaeróbios facultativos e estritos, sendo alguns deles resistentes à penicilina.

IWU et al. (1990) analisando lesões periapicais de dentes anteriores humanos, após

remoção cirúrgica das mesmas, verificaram que dos 14 dos 16 granulomas obtidos apresentavam microrganismos, sendo que desses, 45% eram anaeróbios estritos e 55% anaeróbios facultativos.

BAUMGARTNER & FALKLER Jr. (1991) identificando a microbiota dos 5.0 mm apicais de dez dentes humanos extraídos, com exposição da cavidade pulpar por cárie e reação periapical, verificaram que 68% da mesma era representada por anaeróbios estritos.

Reforçaram o conceito de que bactérias estão presentes nos tecidos periapicais HAPPONEN (1986); BYSTRÖN et al.(1987); HAAPASALO & RANTA (1987) mantendo as lesões periapicais. KIRYU et al. (1994) após apicectomia em dentes humanos portadores de lesão periapical crônica, verificaram que bactérias anaeróbias estritas representavam 86% das presentes.

Recentemente, MOLANDER et al. (1998) examinando microbiologicamente o material colhido de 100 dentes com lesão periapical visível radiograficamente, tratados endodonticamente, verificaram que a microbiota destes canais radiculares era composta, predominantemente, por bactérias anaeróbias facultativas.

Resultados semelhantes também foi observado por TANOMARU FILHO (1996) demonstrando que há necessidade do emprego de algum passo operatório clínico, suplementar, para que se possa atingir essa microbiota extra-radicular (TRONSTAD et al., 1990 a,b) onde bactérias aeróbias e anaeróbias prosperam lado a lado (POTERA, 1996) estabelecendo colônias de biofilme que atingem 50 a 150µm em diâmetros, presente nos dentes portadores de reação periapical crônica, visível radiograficamente.

2.3. CIMENTOS ENDODÔNTICOS

O tratamento endodôntico visa a redução das bactérias do interior do canal radicular, através da manutenção da cadeia asséptica durante todo o tratamento, instrumentação, irrigação, medicação intra-canal, obturação do espaço pulpar e da restauração permanente do dente (WEINE,1996; SIQUEIRA JR. et al., 1997).

INGLE (1956) enfatiza a importância da qualidade da obturação do canal radicular como fator de sucesso do tratamento empreendido e relaciona a maioria dos fracassos do tratamento endodôntico com a falha na obturação adequada do canal. Parece, assim, ficar evidente o papel da obturação do canal em relação ao sucesso do tratamento.

Um antigo axioma de Sachs, relatado por LEONARDO & SIMÕES FILHO (1991) diz o seguinte: "O mais importante no tratamento endodôntico é o que se retira e não o que se coloca no canal radicular". Se esse axioma fosse verdadeiro na sua totalidade, não teríamos tido progressos na Endodontia, uma vez que o paradigma endodôntico atual foi estabelecido no final do século passado: abertura coronária, limpeza, desinfecção e obturação dos canais radiculares (CALLAHAN, 1894).

Os pesquisadores não só se preocuparam com o que se remove do canal radicular, mas também quanto às técnicas da biomecânica, com a desinfecção dos canais radiculares, com as soluções auxiliares da instrumentação, com a medicação intracanal e com os materiais obturadores. Assim, com muita propriedade, SOUZA* (1997) altera o velho

axioma para um outro que diz: "Num tratamento de canal radicular é muito importante o que dele se retira, porém, não menos importante é o que nele se coloca".

A obturação do canal radicular, ou seja, o fechamento "hermético" do espaço preparado, antes ocupado pela polpa dental, é uma meta buscada pelos cirurgiões-dentistas há mais de um século.

Constata-se, em vários trabalhos, uma série de propriedades que um cimento obturador de canais radiculares deve possuir. Essa lista modificada após os trabalhos de GROSSMAN (1958) e BRANSTETTER & FRAUNHOFER (1982) fica assim estabelecida:

- 1) Deve ser de fácil introdução no canal radicular;
- 2) Deve obliterar o canal, tanto lateral como apicalmente;
- 3) Depois de inserido, não deve apresentar contração;
- 4) Deve ser impermeável à umidade;
- 5) Deve ser bacteriostático ou pelo menos impróprio ao crescimento microbiano;
- 6) Deve ser radiopaco;
- 7) Não deve manchar a estrutura dentária;
- 8) Deve ser estéril ou passível de ser esterilizado de modo fácil e rápido;

*SOUZA, W. (Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP) Comunicação pessoal, 1997.

- 9) Não deve irritar o tecido periapical;
- 10) Deve ser de fácil remoção do canal radicular, quando isto se fizer necessário;
- 11) Deve apresentar boa adesão com as paredes do canal.

GROSSMAN, continuando suas investigações, realizou uma série de mudanças na fórmula de seu cimento obturador do canal radicular contendo óxido de zinco/eugenol removendo a prata e adicionando outros agentes radiopacos. Essas mudanças ocorreram em 1958, 1962 e culminou com a fórmula final de 1974.

Na atualidade, existem muitos tipos de cimentos obturadores de canais radiculares, tais como: a) cimento à base de óxido de zinco / eugenol; b) cimentos à base de hidróxido de cálcio ; c) cimentos à base de resinas e d) cimentos à base de ionômero de vidro. Para cada um destes tipos, existem diferentes marcas comerciais e muitos deles são utilizados em nosso país.

Os cimentos à base de óxido de zinco/eugenol mais utilizados são o próprio óxido de zinco (sem aditivos) proposto por GROSSMAN (1974), Fill Canal, Endo-Fill, Procosol e Grosscanal, todos com a mesma fórmula. Além de outros à base de óxido de zinco/eugenol, como Endométhasone, o de Rickert (Kerr Pulp Canal Sealer), Tubli-Seal e o de Wach.

A influência do cimento obturador no resultado final do tratamento endodôntico é um assunto ainda controvertido, principalmente pelo fato de as pesquisas registradas na literatura apresentarem dados bastante divergentes.

Segundo SOUSA-NETO et al. (1999) essas divergências são observadas não só quando se comparam as propriedades de cimentos obturadores diferentes como também quando se analisam dados relativos a um mesmo material.

A história da Endodontia é marcada por incessantes buscas de uma melhor técnica para a limpeza e desinfecção do canal radicular, bem como de um material obturador ideal.

No decorrer deste último século, várias investigações foram realizadas na tentativa de encontrar técnicas e materiais obturadores que pudessem propiciar ao cirurgião-dentista mais sucesso na terapêutica endodôntica (INGLE, 1956).

Dentro do atual paradigma, a obturação do canal radicular é uma premissa incontestável.

A partir do momento em que se preconizou o uso de um cimento endodôntico à base de óxido de zinco/eugenol (GROSSMAN, 1958) todas as atenções voltaram-se para esse fato, o que fez surgir vários pesquisadores interessados em desenvolver outros cimentos levando-se em consideração uma obturação hermética com bons materiais seladores (GROSSMAN, 1962; LEAL, 1966; GROSSMAN, 1974; BERBERT, 1978; LEAL et al, 1988; SIQUEIRA JR. & GARCIA FILHO, 1994; SILVA, 1995; DUARTE et al, 1997).

GROSSMAN (1974) publicou a fórmula do cimento que leva o seu nome e que, após promover alterações sucessivas a partir da primeira composição que preconizou, apresenta os seguintes constituintes: Pó: Óxido de Zinco - 42 partes; Resina Staybelite - 27 partes; Subcarbonato de Bismuto - 15 partes; Sulfato de Bário - 15 partes; Tetraborato de Sódio anidro - 1 parte. Líquido: Eugenol. Nessa nova fórmula, Grossman corrigiu a fórmula proposta em 1962, pois removeu o óleo de amêndoa doce do eugenol para que o cimento não ficasse com dois retardadores do tempo de endurecimento, ou seja, o tetraborato de sódio anidro no pó e o óleo de amêndoa doce no líquido.

A necessidade de se atingir o sucesso clínico de um tratamento endodôntico é evidente, e alguns autores mostram-se preocupados não só com o material obturador como com o preparo do canal radicular antes da obturação.

Após as publicações de RICKERT (1927) e GROSSMAN (1936) que propuseram cimentos específicos para obturação de canais radiculares, inúmeros trabalhos foram realizados na tentativa de esclarecer suas propriedades físico-químicas, biológicas e microbiológicas.

O cimento Endométhasone, possui os seguintes componentes: Pó: dexametasona (0.01g), acetato de hidrocortisona(1.00g), iodo timolado (25.00g), paraformaldeído (2.20g), óxido de zinco, sulfato de bário, estearato de magnésio q.s.p. (100.00g) e o líquido eugenol. O pequeno tamanho das partículas do Endométhasone lhe permite uma maior incorporação do pó ao líquido, o que lhe confere maior consistência. Possui ainda uma importante e duradoura ação antimicrobiana (PUPO,1976) por seu conteúdo de paraformaldeído, que é

um potente anti-séptico. Como consequência da presença de corticosteróides em sua fórmula, lhe são atribuídas propriedades antiinflamatórias. Suas propriedades físico-químicas são bastante similares aos demais produtos à base de óxido de zinco/eugenol. Possui um tempo de presa (FIDEL et al,1995) de aproximadamente 115 minutos, o que favorece o seu emprego na obturação de canais de dentes multirradiculares.

ORSTAVIK & MJOR (1988) avaliaram a biocompatibilidade do Endométhasone em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos após os períodos de 14 e 90 dias, verificaram que os efeitos tóxicos sobre os tecidos foram similares aos de outros cimentos à base de óxido de zinco/eugenol testados (Procosol, Rickert e N2) os quais foram pronunciados.

KETTERING & TORABINEJAD (1984) avaliaram a citotoxicidade dos cimentos Tubli-Seal, de Grossman, de Wach, AH 26 e Diaket sobre fibroblastos humanos e células HeLa, com cimentos manipulados e posteriormente incubados em duas situações diferentes: à manipulação ou após 48 horas. Nos recém preparados, o Tubli-Seal foi o menos citotóxico para células HeLa, enquanto o AH 26 foi considerado o mais tóxico. Após 48 horas da manipulação, Tubli-Seal mostrou-se novamente menos citotóxico, sendo que o Diaket foi o mais citotóxico. Os cimentos Tubli-Seal, Wach, Grossman e AH 26 apresentaram menor toxicidade que o Diaket sobre fibroblastos, quando em estado recém-preparado. No estado tardio, os resultados revelaram que o Tubli-Seal foi o menos citotóxico, seguido do Wach, cimento de Grossman, AH 26 e Diaket.

Mais recentemente, cimentos contendo hidróxido de cálcio passaram a ser empregados na obturação definitiva dos canais radiculares devido aos vários efeitos biológicos benéficos atribuídos ao hidróxido de cálcio (ALMEIDA, 1997). O ideal seria

melhorar as suas propriedades físico-químicas sem contudo interferir nas propriedades biológicas. Os materiais deste grupo comumente pesquisados e conhecidos são Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Apexit.

Dentre esses cimentos contendo hidróxido de cálcio, o Sealer 26 possui composição similar à do AH 26 (SIQUEIRA JR. & GONÇALVES, 1996) cimento à base de resina epóxica. A diferença básica entre ambos é que o Sealer 26 possui hidróxido de cálcio, enquanto o AH 26 apresenta a prata. O Sealer 26 tem a seguinte composição: hidróxido de cálcio, óxido de bismuto, hexametilenotetramina, dióxido de titânio e como resina o éter de bisfenol A diglicidil.

A proporção ideal do Sealer 26 é de aproximadamente 2 a 3 partes de pó para uma de resina, por volume. Quanto maior a proporção, maior a radiopacidade do cimento. O tempo de presa (FIDEL et al., 1995) se dá cerca de 48 a 60 horas em temperatura ambiente, enquanto que no canal ele endurece em aproximadamente 12 horas. O endurecimento se deve à reação entre a resina e a hexametilenotetramina, o agente ativador. É interessante notar que o hidróxido de cálcio não participa da reação de presa do material.

Dos cimentos resinosos do tipo epoxiaminas o AH-Plus (Top Seal), o Sealer Plus e o Diaket são os representantes atuais destes cimentos resinosos. A composição do AH-Plus, fornecida pelo fabricante (Dentsply – De Trey – Suíça) é a seguinte: Pasta A: Resina epóxica, Tungstato de cálcio, Óxido de zircônio, Aerosil e Óxido de ferro. Pasta B: Amina adamantada, N,N' – Dibenzil-5-oxaniomane-diamina-1,9, TCD-Diamina, Tungstato de cálcio, Óxido de zircônio, Aerosil e Óleo de silicone.

Para se preparar AH-Plus a proporção de mistura é de 1:1, em volume. O tempo de trabalho e de aproximadamente quatro horas a 23°C e seu tempo de endurecimento é de cerca de 8 horas a 37°C segundo o fabricante. Apresenta boa capacidade seladora apical e excelente comportamento biológico, permitindo o selamento do forame pela deposição de um tecido cementóide (ALMEIDA, 1997).

Devido às várias propriedades benéficas que possuem, tais como atividade antibacteriana, efeito cariostático, adesão química à estrutura dentária e biocompatibilidade, os cimentos de ionômero de vidro têm sido amplamente utilizados em Odontologia, como material forrador de cavidades, restaurador, selante de cicatrículas e fissuras e na cimentação de próteses fixas (GETTLEMAN et al. 1991). Devido a tais propriedades, seu uso como cimento endodôntico tem sido preconizado. O Ketac-Endo é o representante mais difundido e estudado deste grupo de cimentos.

Ketac-Endo (CIV) é apresentado em cápsulas e sua mistura deve ser realizada em um vibrador de alta frequência (aproximadamente 4.300 vibrações por minuto), por 10 segundos. Seu tempo de trabalho, incluindo a preparação do material, é de 33 minutos a 23°C. O tempo de endurecimento, nestas condições, é de aproximadamente 90 minutos.

Somente em 1983, a AMERICAN DENTAL ASSOCIATION (ADA) publicou uma norma: "A Especificação 57 para Materiais Obturadores de Canais Radiculares", que padronizou definitivamente os experimentos, tornando assim, os resultados de diferentes trabalhos comparáveis entre si. A aplicação efetiva dessa normatização só ocorreu nos últimos 10 anos e, muitos trabalhos ainda estão para ser realizados.

Segundo a norma 57 da ADA para materiais obturadores de canais radiculares, o tempo de endurecimento deve ser de $\pm 10\%$ daquele informado pelo fabricante. Segundo GROSSMAN (1976), o tempo de endurecimento de um cimento endodôntico deve ser de aproximadamente 20 minutos.

Essa extensa faixa de tempo obtida entre o menor e o maior tempo de endurecimento deve-se provavelmente à composição dos cimentos, uma vez que fatores como temperatura, umidade do ar e espessura da amostra, que interferem na velocidade da reação, sejam idênticos em todos os testes realizados (BATCHERLOR & WILSON, 1969).

BATCHERLOR & WILSON (1969) enfatizaram em seu trabalho a influência que a relação pó/líquido tem sobre as propriedades biológicas dos materiais.

SAVIOLI et al. (1995) estudaram a influência de cada componente químico do cimento proposto por GROSSMAN sobre a relação pó/líquido e o tempo de espatulação obtidos para atingir a consistência clínica ideal. Para se avaliar qual a influência que cada componente do pó e do cimento tem sobre a relação pó/líquido, avaliaram-se sete fórmulas diferentes, acrescentando-se ao óxido de zinco puro os demais componentes da fórmula. Observou-se que o tempo de espatulação necessário para que o cimento atinja a consistência desejada está diretamente relacionado à quantidade de pó utilizada, e que o tempo de espatulação está inversamente relacionado à quantidade de óxido de zinco presente na fórmula.

Detalhes na preparação dos cimentos obturadores podem modificar seus padrões de toxicidade. A dosificação correta pó-líquido, o tempo e a técnica de espatulação são

fatores fundamentais nesse sentido (HOLLAND et al.1971; BENATTI et al.1978). O tempo de endurecimento também está intimamente ligado a toxicidade. Quanto mais prolongado também for esse tempo, maior, em geral, será a irritação produzida. CURSON & KIRK (1968) estudaram a diferença existente entre a relação tissular causada pelos materiais não endurecidos e os já solidificados, observando que a máxima ação irritante produz-se durante o período de endurecimento dos mesmos. SPANGBERG et al., (1973) verificaram que, em estado recém-preparado todos os cimentos são tóxicos, enquanto que, ao tomarem presa, vão lentamente tornando-se inertes.

Na manipulação dos cimentos à base de óxido de zinco/eugenol (OZE), uma matriz de eugenolato é formada. Após a presa do material, 5% da quantidade original de eugenol permanecem livres (MOLNAR, 1967). Além do eugenol que apresenta atividade antibacteriana efeito anestésico e antiinflamatório, os íons de Zn^{2+} , também podem estar envolvidos na inibição do crescimento bacteriano.

MERYON & JAKEMAN (1985) demonstraram que o cimento de óxido de zinco/eugenol após 14 dias libera 26,88ppm de zinco (a concentração plasmática normal é de 1ppm), o que representa grande efeito citotóxico. Nas obturações endodônticas com cimento à base de óxido de zinco/eugenol, uma pequena quantidade pode contatar os tecidos periapicais ao nível do forame apical, e ser suficientemente tóxica, tanto para as bactérias quanto para células do hospedeiro. Se extravasado uma grande quantidade de cimento para os tecido periapicais permite maior difusão do eugenol, exercendo suas propriedades deletérias no processo de reparo tecidual.

A solubilidade e desintegração deve ser a menor possível em um cimento de canal radicular para que esse possa propiciar um fechamento o mais hermético possível, favorecendo o sucesso clínico, pois a infiltração pode ocorrer tanto de cervical para apical como no sentido inverso (LEAL, 1966; SIMÕES FILHO, 1969; HOLLAND et al, 1974; BENATTI et al, 1978).

SIQUEIRA JR. & GARCIA FILHO, em 1994, encontraram as menores médias de infiltração apical do corante azul de metileno nos canais obturados com Sealer 26 quando comparadas com aquelas observadas para o Sealapex e CRCS, embora não houvesse diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados.

Também HOLLAND et al. (1996) encontraram para o Sealer 26 uma boa capacidade seladora apical estatisticamente não significativa, quando comparada com aquela observada para o Sealapex e Apexit e superior às observadas para o CRCS e o cimento OZE.

FIDEL et al. (1994) estudaram a adesividade de vários cimentos que contêm hidróxido de cálcio em suas composições: Sealer 26, CRCS, Apexit e Sealapex, utilizando o Fillcanal como controle. A adesão à dentina com e sem o uso de EDTA foi mensurada. O Sealapex e o Apexit apresentaram as menores adesividades. A aplicação do EDTA à dentina aumentou a adesão do cimento à superfície, com exceção do cimento Sealapex.

BONETTI FILHO et al. (1995) avaliaram a capacidade seladora do Ketac-Endo e do Sealer 26, quando comparados com o Fill Canal, utilizando o corante azul de metileno a 2% como marcador de infiltração. O Sealer 26 apresentou o melhor selamento, seguido do Fill Canal e do Ketac-Endo, que apresentou maior infiltração

SILVA et al. (1997) estudando a adesividade à dentina de algumas marcas comerciais de cimentos obturadores de canais radiculares, observou que, antes da aplicação do EDTAC, a ordem dos cimentos, da maior adesividade para a menor, ficou assim estabelecida: Fillcanal, N-Rickert, Endométhasone e Endométhasone Ivory. Após aplicado o EDTAC, a ordem, da maior adesividade para a menor, ficou assim: Fillcanal, N-Rickert, Endométhasone e Endométhasone Ivory, sendo que estes dois últimos compuseram um grupo à parte, sem diferença estatisticamente diferente entre eles. A aplicação de EDTAC sobre a superfície dentinária surtiu efeitos estatisticamente significantes apenas para o cimento Endométahsone Ivory, ao nível de 5%.

BARBOSA et al., em 1993, verificaram os efeitos citotóxicos dos cimentos endodônticos Fill Canal, N-Rickert, Sealer 26 e a pasta FS. A toxicidade dos materiais foi avaliada pelo método de cromo radioativo, através da contagem direta e indireta do cromo liberado de cultura celulares de fibroblastos gengivais humanos e de células L929 de ratos. Pelos resultados ficou evidente que o Fill Canal, N-Rickert e a pasta FS são altamente tóxicos e que o Fill Canal libera produtos tóxicos tanto recém-preparado como após a presa. O cimento Sealer 26 demonstrou ser o menos tóxico dos estudados.

KOULAOUZIDOU et al., em 1998, avaliaram *in vitro* a citotoxicidade de três cimentos à base de resina: AH26, AH Plus e Top seal. Este experimento incluiu dois tipos de células L929 (fibroblastos da pele de ratos) e RPC-C2A (células da polpa de ratos). A citotoxicidade foi avaliada pela sulforodamine B (SRB), através da análise de colorimetria e hemocitometro com contagem de células após 24 e 48 horas de exposição.

O cimento AH26 mostrou um severo efeito citotóxico enquanto o Top seal e o AH-Plus mostraram um efeito de toxicidade celular reduzido durante o período experimental.

LEONARDO et al., em 1999a, avaliaram a liberação de formaldeído de 4 cimentos endodônticos: AH-26, Endométhasone, AH-Plus e Top Seal. Foi utilizada a análise em espectrofotômetro foram utilizados para determinar o conteúdo de formaldeído do grupo de materiais testados. A análise mostrou que o AH26 e Endométhasone liberaram formaldeído. Quanto ao AH Plus e Top Seal que apresentam a mesma composição química, estes liberaram formaldeído em uma concentração mínima. Concluem os autores que, o AH26 e o Endométhasone liberaram formaldeído após mantidos por 72 horas em temperatura ambiente. Entretanto para o AH-Plus e Top Seal foi observada uma liberação mínima de formaldeído.

LEONARDO et al., em 1999b, avaliaram a citotoxicidade dois tipos diferentes de cimentos endodônticos: AH Plus (resina epóxi) e Fill Canal (cimento à base de óxido de zinco/eugenol). Utilizaram 34 raízes de pré-molares com polpa vital de cães. Após instrumentação, os canais radiculares foram preenchidos com guta-percha e cimento AH-Plus ou Fill Canal, usando-se a técnica clássica de condensação lateral. Após 90 dias sacrificaram os animais e processaram as lâminas que foram coradas com HE., ou tricrômico de Mallory. Células inflamatórias ou áreas de necrose não estiveram presentes no AH-Plus. Os tecidos duros apicalmente formados foram observados em 14 espécimes. O Fill Canal esteve presente com resposta inflamatória com intensidade moderada na região periapical circundando o material.

LEONARDO, RT. et al., em 2000, avaliaram a citotoxicidade de quatro cimentos à base de hidróxido de cálcio: Sealapex, CRCS, Apexit e Sealer 26, e um à base de óxido de

zinco/eugenol: Fill Canal , quanto a microscopia e mudanças morfológicas em macrófagos no peritônio de ratos. A menor toxicidade ocorreu no cimento Fill Canal seguido em ordem crescente de citotoxicidade para o CRCS, Sealer 26, Apexit e Sealapex (o mais citotóxico).

COHEN et al. em 2000, determinaram a citotoxicidade através do teste de difusão em ágar de dois cimentos endodônticos : AH-26 e AH-Plus. O teste de difusão em ágar foi conduzido baseada nos procedimentos descritos na Organização Internacional de Estandardização. A reatividade biológica foi determinada pelas células L929 em fibroblastos de ratos em resposta aos agentes testados. Após 48 horas de observação, as células expostas na cultura para os testes de discos de AH-26 e AH-Plus exibiram severa reatividade (Grau 4). O controle positivo exibiu moderada reatividade (Grau 3). Controle negativo apresenta sem sinal de reatividade (Grau 0). Os testes das amostras de AH-26 e AH-Plus foram considerados citotóxicos e não encontraram o requisito para difusão no ágar. O resultado de citotoxicidade foi semelhante aos citados na literatura tanto para o AH-26 como para o AH-Plus.

SIQUEIRA JR et al.(2000) investigaram o poder de escoamento de diversos cimentos tais como: Kerr Pulp Canal Sealer EWT, Cimento de Grossman, ThermaSeal, Sealer 26, AH-Plus e Sealer Plus. O teste de difusão em ágar foi utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana dos cimentos. No teste do escoamento, os cimentos foram colocados entre duas placas de vidro e sob um peso de 500 gramas. Os diâmetros dos discos formados foram registrados. Todos os cimentos testados mostraram alguma atividade antimicrobiana contra a maioria dos microrganismos. Não houve diferença significativa entre os materiais de atividade antimicrobiana testados ($P>0,05$). Todos os

cimentos fluíram acima da condição deste estudo. Os resultados revelaram que o AH-Plus e o Kerr Pulp Canal Sealer EWT apresentaram valores de escoamento significativamente superior aos demais cimentos testados ($p<0,05$). Dos cimentos testados, todos os achados sugerem que estes cimentos têm potencial para manter sob controle o aspecto microbiano no sistema de canal radicular.

JUKIC et al. em 2000, avaliaram o potencial mutagênico de cimentos endodônticos AH-Plus e AH-26, através do uso da bactéria *Salmonella*. Os materiais foram testados imediatamente após sua mistura, 1 hora e 1 mês após, respectivamente. O dimetil sulfoxido extraído dos cimentos em equivalência de 3,0, 1,5 e 0,75µl / placas foram utilizados. As cepas bacterianas de *Salmonella* foram TA 98 e TA 100. Os resultados mostraram que AH-Plus é mutagênico no sentido de deslocação TA 100 1 hora após a mistura. Um mês após a mistura, a atividade mutagênica foi expressada somente em TA 98. A pasta A mostrou forte mutagenicidade no sentido TA 100. O AH 26 foi mais mutagênico para o TA 100 imediatamente após a mistura, 1 hora e 1 mês após sua polimerização. Também foi mutagênico no sentido TA 98 na condição de polimerizado. Exames posteriores devem conduzir e estabelecer a conclusão definitiva a respeito do potencial mutagênico destes dois cimentos testados.

2.3.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS

BIRAL & NASCIMENTO (1973) analisaram a ação antimicrobiana, pelo método de difusão em ágar, do cimento Fill Canal, e outros cimentos utilizados tais como: óxido de zinco/eugenol, Alphacanal, Diaket-A, Pulp Canal Sealer, Oxpara, Pyocidina com

sulfanilamida e Vedacanal. Utilizaram discos de cada um dos cimentos (6 mm diâmetro x 1.5 mm espessura). Semanalmente estes discos, armazenados em recipientes hermeticamente fechados, eram colocados em Ágar Triptona Soja (TSA) e semeados em coquetel de microrganismos oriundos de canais radiculares infectados. Após 48 h de incubação a 37°C., o Fill Canal mostrou marcada diminuição de atividade antimicrobiana com o passar do tempo.

PUPPO (1976) analisando a ação antimicrobiana pelo método de difusão em ágar, dos cimentos de uso endodôntico Fill Canal, Trin canal, Diaket-A, Endométhasone e AH-26, frente a amostras de microrganismos freqüentes em canais radiculares infectados, fez as seguintes observações: a) os cimentos obturadores testados apresentaram variações de atividade antimicrobiana, sendo esta, de um modo geral mais pronunciada nas etapas iniciais; b) o cimento Diaket-A foi o único que apresentou maior atividade antimicrobiana durante os períodos experimentais; c) os cimentos Endométhasone e AH-26 mostraram atividade antimicrobiana frente a todos os microrganismos, apenas quando imediatamente ao seu preparo, porém, com decréscimo acentuado nos períodos subseqüentes.

STEVENS & GROSSMAN (1981) avaliaram o efeito antimicrobiano de alguns cimentos endodônticos. Nove cimentos obturadores de canais radiculares foram testados com relação ao potencial antibacteriano sobre a bactéria anaeróbia *Bacteroides fragilis*. Corpos-de-prova contendo o cimento recém-espatulado foram colocados sobre placas de ágar inoculadas com o microrganismo em teste e após incubação, as zonas de inibição ao crescimento bacteriano foram observadas e medidas. Os resultados mostraram que o AH-26, o N2, o Procosol, o Roth e o cimento de óxido de zinco/eugenol promoveram significativa inibição do crescimento bacteriano. Nos cimentos Diaket, Kerr e Tubli-Seal

ocorreu moderada inibição, não tendo o cimento endodôntico Mynol promovido inibição de crescimento do *Bacteroides fragilis*.

PUPO et al. (1982) avaliaram a atividade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar dos cimentos endodônticos Fill Canal, Endométhasone e Trin canal sobre culturas puras de bactérias e leveduras e sobre uma microbiota mista de bactérias obtidas de canais radiculares contaminados. Os autores observaram que o Endométhasone, quando ainda na fase plástica, apresentou os maiores halos de inibição. Após a presa, todos os cimentos testados perderam gradualmente sua capacidade anti-séptica. O Endométhasone e o Trin canal perderam esta capacidade de forma brusca, enquanto o Fill Canal diminuiu a sua ação antimicrobiana lentamente, porém sem se demonstrar ativo contra *P. aeruginosa*.

OGATA et al. (1982) avaliaram a ação antimicrobiana de alguns cimentos endodônticos tais como Fill Canal, óxido de zinco/eugenol, Alfacanal, Vedacanal e N-Rickert pelo método de difusão em ágar, usando os seguintes microrganismos: *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus liquefaciens*, *Streptococcus mitis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria* spp., *Bacillus* spp. e *Candida albicans*. Os resultados demonstraram que os maiores halos de inibição, em ordem decrescente, foram produzidos pelo Alfacanal, Vedacanal, Fill-Canal, Óxido de zinco/eugenol e N-Rickert.

PUPO et al. (1983) compararam o efeito antimicrobiano de cinco cimentos (Fill-canal, Endométhasone, Trin canal, AH-26 e Diaket-A, utilizando o método de difusão radial em meio ágar, utilizando cultura pura de microrganismos (*Streptococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aerobacter aerogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*), e uma cultura mista obtida de canais contaminados.

Testaram os cimentos após a espatulação e após a reação de presa, em 3,7,15,30 e 60 dias. Verificaram que o Endométhasone e o Diaket-A, tiveram os maiores halos de inibição pós-espatulação. O Diaket-A, Fill Canal, Trin canal e AH-26 não inibiram *Pseudomonas aeruginosa*. Com o tempo, o Trin canal e o Endométhasone perderam bruscamente o poder anti-séptico. Para o AH26 e Fill Canal a perda foi mais gradual, enquanto que para o Diaket-A ocorreu um aumento da ação anti-séptica sobre alguns microrganismos. Concluíram que a grande ação antimicrobiana do Endométhasone é mais apropriada para complementar a anti-sepsia do canal. Porém, ressaltam que a perda desta ação com o tempo pode favorecer nova contaminação do canal por bactérias da saliva ou, então do sangue durante uma bacteremia.

HUME (1988) descreveu as ações do eugenol quando sozinho ou quando misturado ao óxido de zinco. Citou que quando o óxido de zinco e eugenol é aplicado sobre a superfície dentinária, possui efeito antimicrobiano e com relação ao tecido pulpar as concentrações que atingem-no são baixas, possuindo efeito benéfico como anódino, vasodilatador e inibidor de síntese de prostaglandina. Quando colocado em contato direto com tecido pulpar ou em cultura de células, a quantidade de eugenol liberada é maior, levando a agressões, muitas vezes, irreversíveis das células. Discutiu que quando empregado na composição de materiais obturadores, a resposta dos tecidos apicais é melhor do que no corpo da polpa, porém o extravasamento deve ser evitado para evitar ações neurotóxicas.

ORSTAVIK & MJOR (1988) estudando a ação antimicrobiana de cimentos de uso endodôntico, observaram para o Endométhasone uma rápida perda de atividade e sua inativação pelos fluidos teciduais. Sendo que em 1981, ORSTAVIK estudou a ação

antimicrobiana de vários cimentos sobre *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Cimentos utilizados foram o AH-26, Diaket, Endométhasone, N2, Kerr Pulp Canal Sealer, Procosol e Tubli-Seal. Todos os cimentos apresentaram algum efeito antimicrobiano, principalmente quando recém-preparados. Além disso, os cimentos que contêm paraformaldeído na formulação, como o Endométhasone e o N2, apresentaram atividade antimicrobiana pronunciada mesmo após o endurecimento

CANALDA & PUMAROLA, em 1989, avaliaram *in vitro* utilizando o método de difusão radial em ágar a ação antimicrobiana dos cimentos à base de hidróxido de cálcio (CRCS e Sealapex), à base de óxido de zinco (Tubli-Seal e Endométhasone) e resinoso (AH-26). Os microrganismos utilizados foram o *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Veillonella* spp, *Bacteroides fragilis* e *Candida albicans*. Os halos de inibição foram medidos após 48 e 96 horas de incubação das placas a 37°C em condições de anaerobiose e aerobiose. Verificaram que a ação antimicrobiana dos cimentos que contêm hidróxido de cálcio foi semelhante a dos outros cimentos, com exceção da *Veillonella* spp que não sofreu ação do Sealapex. *Candida albicans* não foi inibida pelo AH26. Os autores observaram também que os maiores halos ocorreu com o Endométhasone que possui paraformaldeído em sua composição.

BARKHORDAR (1989) avaliou a atividade antimicrobiana de dez cimentos endodônticos sobre o *Streptococcus sanguis* e o *Streptococcus mutans*. Os materiais testados pelo método de difusão em ágar foram: AH-26, CRCS, Dentinol, Díaket, Kerr Pulp Canal Sealer, Sealapex, Nogenol, Pulpdent, Tubli-Seal e Endo-Fill. As placas de cultura foram incubadas a 37°C e a verificação da atividade antibacteriana foi realizada após 2, 7 e 14 dias. Os resultados mostraram que todos os materiais obturadores inibiram o

crescimento dos dois microrganismos. As zonas inibitórias foram maiores para o *Streptococcus sanguis* que as do *Streptococcus mutans*, em todos os materiais testados, com exceção do Diaket. O Dentinol, o Kerr Pulp Canal Sealer e o Tubliseal tiveram uma ação inibitória significativamente maior sobre o *Streptococcus sanguis* que os demais cimentos testados. O Diaket teve a maior ação sobre o *Streptococcus mutans*.

AL-KHATIB et al. (1990) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* através de teste de difusão em ágar, de vários cimentos endodônticos: de Grossman, Tubli-Seal, Calciobiotic, Sealapex, Hypocal, Eucapercha, Nogenol e AH-26, além das pastas de hidróxido de cálcio, do hidróxido de cálcio associada ao soro fisiológico e de um tipo de Teflon. Os microrganismos utilizados foram *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e "*Bacteroides endodontalis*". Logo após a sua espatulação, os cimentos foram colocados nos meios de cultura inoculados com as bactérias em estudo. Depois de vários períodos de incubação (24 e 48 horas, 7 e 35 dias) as zonas de inibição do crescimento bacteriano foram observadas e mensuradas. O cimento de Grossman demonstrou a maior atividade antibacteriana. Contudo, o AH-26 apresentou maior efetividade contra o "*Bacteroides endodontalis*". Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol demonstraram maior atividade antibacteriana que aqueles à base de hidróxido de cálcio ou a eucapercha.

Em 1992, PUMAROLA et al., testaram a atividade antimicrobiana de vários cimentos usados em Endodontia: Traitment Spad, Endométhasone, N2 Universal, Diaket-A, AH-26 com prata, Tubli-Seal e Sealapex, em 2 tipos de testes: difusão em ágar e diluição em ágar contra 120 cepas de *Staphylococcus aureus*. Obtiveram para o Traitment Spad e Diaket-A, as maiores inibições ao teste de diluição em ágar. Também no teste de

difusão em ágar o mesmo cimento, Traitment Spad, obteve maior halo de inibição, seguido pelo Endométhasone, N2 Universal, AH-26 com prata, Diaket-A, Tubli-Seal e por último o Sealapex (menor halo). Eles relataram que os cimentos à base de OZE, paraformaldeído (Endométhasone) ou resinas apresentaram maior atividade inibitória do que o Sealapex, que teve a menor ação antimicrobiana.

ESTRELA et al. (1995) estudaram a atividade antimicrobiana dos cimentos à base de hidróxido de cálcio: Sealapex, Sealer 26 e Apexit, contra bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas. Nenhum dos cimentos utilizados promoveu halos de inibição de crescimento das bactérias testadas, tanto imediatamente após a manipulação, quanto após 48 horas.

SIQUEIRA JR. & GONÇALVES (1996) avaliaram a atividade antimicrobiana pelo teste de difusão em ágar dos cimentos Sealapex, Sealer 26 e Apexit, à base de hidróxido de cálcio, comparando-o ao Fill Canal, cimento à base de OZE, contra bactérias anaeróbias estritas comumente associadas às infecções endodônticas. Os resultados revelaram que o Fill Canal apresentou a maior atividade inibitória de crescimento. Isto ocorreu devido ao seu conteúdo de zinco e principalmente de eugenol. O Sealer 26 foi o segundo de maior atividade, apenas não sendo eficaz contra *Porphryromonas endodontalis* e *Porphyromonas gingivalis*. Embora contenha hidróxido de cálcio em sua formulação, esta substância não parece ser a principal responsável por tal propriedade do cimento. A hexametilenotetramina, elemento ativador da presa da resina do cimento presente no Sealer 26, se decompõe em meio aquoso em formaldeído e amônia. O formaldeído possui excelente atividade antimicrobiana. O Sealapex apenas apresentou eficácia contra duas espécies bacterianas, enquanto que o Apexit foi inerte.

ABDULKADER et al., 1996, avaliaram os efeitos antibacterianos, através dos testes de difusão em ágar, de cinco cimentos: Apexit, Ketac-Endo, Roth Sealer, Sealapex e Tubli-Seal sobre as bactérias: *Capnocytophaga ochracea*, *Porphyromonas gingivalis* e *Peptostreptococcus micros*. No geral, o cimento Ketac-Endo foi mais eficaz do que o Tubli-Seal, Apexit e Sealapex.

SHALHAV et al. (1997) demonstraram em testes de difusão em ágar e de contato direto, que o cimento Ketac-Endo, quando recentemente preparado, apresentou grande atividade antimicrobiana sobre o *Enterococcus faecalis*. Tal efeito não foi observado nas amostras do cimento preparadas há 24 horas e 7 dias antes do teste. HELING & CHANDLER (1996) relataram que o Ketac-Endo não apresentou efeitos antibacterianos em canais infectados experimentalmente com *Enterococcus faecalis*.

DUARTE et al. (1997) avaliaram o poder antimicrobiano dos cimentos Endométhasone, AH-26, Sealer 26, Sealer 26 acrescido de 5% de hexametilenotetramina, Sealer 26 acrescido de 10% de hexametilenotetramina, Sealapex e pasta aquosa de hidróxido de cálcio através do método de difusão radial em placas de ágar escavadas e cepas puras de microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp. e *Candida albicans*). As leituras foram efetuadas após 24 e 48 horas de incubação em aerobiose e microaerofilia. Os resultados mostraram que o Endométhasone apresentou os maiores halos de inibição do crescimento microbiano e que o acréscimo de hexametilenotetramina acarretou um aumento nos halos proporcionados pelo Sealer 26. O cimento Sealapex e a pasta de hidróxido de cálcio não inibiram os microrganismos testados.

FUSS et al. (1997) estudaram a atividade antibacteriana através do método de contato direto de cimentos à base de hidróxido de cálcio (Sealapex e CRCS), comparados a cimentos à base de OZE (Roth). Cimentos testados foram espatulados dentro de 20 minutos, 24 horas antes da realização dos testes e 7 dias antes. Eles foram depositados então em placas tipo cultura de células onde haviam sido inoculadas suspensões de *Enterococcus faecalis*, ficando as bactérias em contato com cimento por 1 hora a 37°C. Quando recém manipulados os cimentos CRCS e Roth, apresentaram efeito antimicrobiano mais efetivo do que o Sealapex. Após 24 horas de manipulação o cimento Roth, foi o mais efetivo em relação aos dois cimentos à base de hidróxido de cálcio (Sealapex e CRCS). Após 7 dias de manipulação, somente o Sealapex apresentou maior ação antimicrobiana. Concluíram os autores que a atividade antimicrobiana de cada cimento, altera diferentemente com o tempo. Entretanto, segundo os autores, as propriedades biológicas e farmacológicas de um cimento não devem comprometer as propriedades físicas, tais como a estabilidade e o selamento.

KAPLAN et al., em 1999, avaliaram o efeito antimicrobiano *in vitro* de seis cimentos endodônticos após 2, 20 e 40 dias através do método de difusão em ágar. Estudaram os cimentos: Apexit, Endion, AH26, AH Plus, Procosol e Ketac-Endo. Os microrganismos foram: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Actinomyces israelii*. Placas de Petri foram preenchidas com ágar estéril e 0,1 ml foram completamente preenchidos com os cimentos. As placas de ágar foram guardadas por 24 horas a 37°C. As amostras foram então removidas e imersas em 4,5 ml de meio de cultura e divididos em três grupos. As amostras do Grupo 1 foram conservadas por 2 dias a 37°C, enquanto as amostras do Grupo 2 e Grupo 3, conservadas a 4°C por 20 e 40 dias

respectivamente. As amostras foram então removidas e descartadas, e 0,1 ml do meio de cultura foi posto nas placas de Ágar em ordem a realizar contagem das colônias formadas. Apexit, Endion e AH-Plus inibiram *Streptococcus mutans* e aos 20 dias *Actinomyces israelii*. Nenhum halo de inibição foi observado em relação a *Candida albicans* e ao *Staphylococcus aureus*. Ketac Endo somente produziu halo de inibição contra *Actinomyces israelii* de 2 a 40 dias. AH 26 e Procosol mostraram efeito antimicrobiano aos 40 dias sobre a *Candida albicans* e, aos 20 e 40 dias sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, e uma inibição efetiva sobre os *Actinomyces israelii* em todo o intervalo de tempo. Concluíram que ambos cimentos e microrganismos constituíram fatores significantes e afetaram os resultados dos Grupo 2 e do Grupo 3. Assim os cimentos avaliados neste estudo mostraram diferentes efeitos inibitórios em curto período de tempo. Os cimentos contendo eugenol e formaldeído mostraram ser mais efetivo contra os microrganismos em todo o tempo de estudo do experimento.

LEONARDO, M.R. et al., em 2000, avaliaram a atividade antimicrobiana de 4 cimentos: AH-Plus, Sealapex, Ketac-Endo e Fill Canal, e de 2 pastas de hidróxido de cálcio: Calen e Calasept., e uma pasta à base de óxido de zinco. Foram utilizadas 7 cepas bacterianas: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*. Atividade foi avaliada usando-se o método de difusão em ágar com BHI Ágar e meio Mueller Hinton colocados em placas. Os cimentos de hidróxido de cálcio e pastas foram colocados diretamente em escavações de 4.0 x 4.0 mm e em pontas de papel absorvente. As placas foram conservados a uma temperatura ambiente por 2 horas para manter a difusão dos materiais A seguir foram incubadas a 37°C por 24 horas, em meio

otimizado com 0.05 g% TTC gel e halos de inibição foram medidos. Todas cepas bacterianas foram inibidas por todos os materiais testados neste estudo. Entretanto, quando os materiais foram aplicados com pontas de papel absorvente, o *Enterococcus faecalis*, não foi inibido pela pasta de óxido de zinco, e *Pseudomonas aeruginosa* não foi inibida pelo AH-Plus, Fill Canal, e pasta de óxido de zinco. Concluem os autores que os cimentos e pastas testados, tiveram sua atividade antimicrobiana *in vitro* e meio de cultura otimizada com 0.05g% TTC gel, deste modo facilitando a observação dos halos de inibição.

3. PROPOSIÇÃO

Levando-se em consideração a importância da atividade antimicrobiana na eficácia de um cimento endodôntico, quando da obturação de canais radiculares, este trabalho teve por objetivo:

- a) Avaliar a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos, através do método de difusão em ágar;
- b) Avaliar a atividade antimicrobiana dos cimentos pelo contato direto com os microrganismos através da observação da curva de crescimento dos microrganismos em meio líquido;
- c) Verificar a ação dos diferentes cimentos sobre os microrganismos.

Os cimentos utilizados foram: Endo-Fill, Endométhasone, Sealer 26 e AH-Plus, nos seguintes tempos após manipulação: Imediatamente, 24 hs, 48 hs e 7 dias; e os microrganismos utilizados foram: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces naeslundii*.

4.MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. CIMENTOS (ANEXO 1)

Os cimentos obturadores analisados neste trabalho foram:

4.1.1.1. ENDO-FILL (Herpo Produtos Dentários Ltda., Petrópolis-RJ/Brasil).

4.1.1.2. ENDOMÉTHASONE (Specialités-Septodont - Saint Maur – Paris-França)

4.1.1.3. SEALER 26 (Dentsply, Indústria e Comércio Ltda. Petrópolis – Rio de Janeiro / Brasil).

4.1.1.4. AH-PLUS (Dentsply – DeTrey GmbH D-78467, Konstanz – Suíça).

4.1.2. MICRORGANISMOS

4.1.2.1. Levedura

Candida albicans (NTCC 3736)

4.1.2.2. Bactérias Anaeróbias facultativas:

Actinomyces naeslundii (M 104)

Enterococcus faecalis (ATCC 29212)

Streptococcus sanguis (ATCC 10556)

Staphylococcus aureus (ATCC 25923)

4.1.3. MEIOS DE CULTURA (ANEXO 2)

Brain Heart Infusion (BHI) – Oxoid, Unipath Ltda, Basingstoke, UK

Brain Heart Infusion Agar(BHIA)–Oxoid, Unipath Ltda, Basingstoke, UK

Mueller-Hinton Agar (MHA)– Oxoid, Unipath Ltda, Basingstoke, UK

4.2. MÉTODOS

4.2.1. MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR

4.2.1.1. PREPARAÇÃO DO INÓCULO

A atividade antimicrobiana foi realizada pelo método clássico de difusão radial em ágar com algumas modificações (método da camada dupla), e posterior leitura dos halos de inibição de crescimento microbiano.

Os organismos aeróbios e facultativos foram subcultivados em placas de BHI Ágar sangue e incubados por 18-24 h a 37°C em condições atmosféricas (aeróbios) ou em 10% CO₂ (estufa de CO₂ - Jouan, Saint-Herblain, Cédex-França).

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas de aeróbios e facultativos foram suspensas em tubos contendo 5 mL de BHI (Figura 4.1.A). Após agitação mecânica, a suspensão era ajustada em espectrofotômetro com transmitância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0,5 da escala de Mc Farland (1.5×10^8 bactéria/mL). Tal concentração de inóculos foi utilizado por promover crescimento semi-confluyente de todos os microrganismos testados (KOO et al. 2000).

4.2.1.2. PREPARO DAS CAMADAS DE ÁGAR

Para avaliar a atividade antimicrobiana das substâncias testadas frente a levedura, (aeróbia) e anaeróbias facultativas foram utilizadas placas de 140 mm de diâmetro. Os testes foram realizados em triplicata em tempos diferentes.

Utilizou-se o método da camada dupla.

Inicialmente foram preparadas as placas contendo 40 mL de MHA que serviram de base para a camada de inóculo (seed), que era preparada a seguir.

Quarenta mL de BHIA eram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, quando o BHIA atingia 45°C, ainda em estado líquido, se adicionava 400µL do inóculo microbiano e se promovia agitação uniforme do conjunto. O BHIA passava a ter, portanto, 1% de inóculo microbiano, era então distribuído sobre a camada sólida de MHA. Aguardava-se então a solidificação do meio de cultura (Figuras 4.1.B,C).

4.2.1.3. PREPARO DOS CIMENTOS A SEREM TESTADOS

Os cimentos endodônticos (Figura 4.3.A), após dosados em balança eletrônica digital, foram espatulados em placas de vidro com espátula de aço inoxidável nº24 estéreis, conforme metodologia descrita por **PUPO (1976)**, definindo-se as proporções para os 2

primeiros cimentos (Endométhasone e Endo-Fill). Sealer 26 e AH-Plus obedeceram a recomendação dos fabricantes.

Endo Fill	1,600 g pó x 0,4 mL líquido (PUPO,1976)
Endométhasone	1,250 g pó x 0,4 mL líquido (PUPO,1976)
Sealer 26	0,39 g pó x 0,13 mL líquido (recomendação do fabricante)
AH-Plus	proporções iguais: pastas A e B (recomendação do fabricante)

Os cimentos foram espatulados por um período de 40 a 60 segundos até obter a homogeneização. Após as espatulações, as misturas foram colocadas no interior dos tubos de inox estéreis de 6 mm de largura interna, 8 mm de largura externa e 10 mm de altura preenchendo-os em altura e diâmetro. Em seguida, com exceção dos cimentos preparados no período de imediato, os demais foram acondicionados em placas de Petri e conservados em estufa à 37°C até o momento do experimento.

4.2.1.4. COLOCAÇÃO DOS TUBOS DE INOX SOBRE A SUPERFÍCIE DO ÁGAR

Após a solidificação dos meios de cultura, cilindros de inox estéreis, foram preenchidos com os cimentos do experimento e dispostos sobre a superfície do ágar (Figura 4.1.D). Foram colocados 6 cilindros (3 para cada tempo após a espatulação), em cada placa com o meio de cultura. As placas mantidas por 2 h. à temperatura ambiente para permitir a difusão dos cimentos na superfície do BHIA.

4.2.1.5. INCUBAÇÃO

As placas foram mantidas a 37°C em condições gasosas apropriadas: levedura (*Candida albicans*) e *Staphylococcus aureus* em estufa de O₂ a 37°C (Figura 4.1.E) por 24 horas. Placas semeadas com *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis* foram colocadas em estufa a 37°C sob fluxo contínuo de 10% de CO₂ (Figura 4.1.F) por 48 horas.

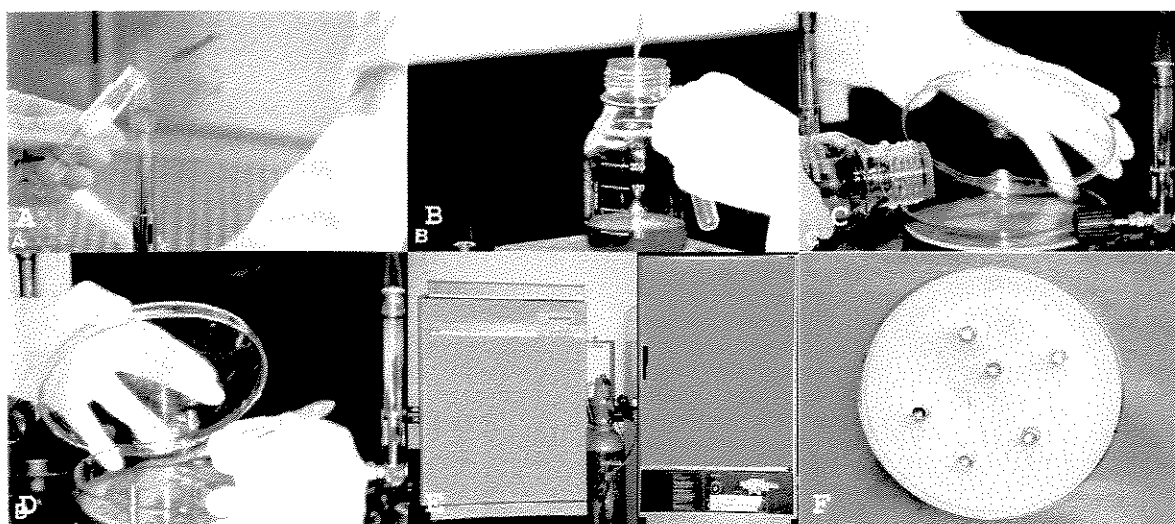


Fig.4.1. A- Suspensão microbiana B-C-Semeadura em profundidade D-Colocação de cilindros de aço inox sobre a camada “seed “ E- Incubação F- Halos de inibição

4.2.1.6. LEITURA DOS HALOS DE INIBIÇÃO

A leitura para organismos tais como *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* foi feita após 24 horas de incubação em estufa de O₂. Enquanto que a leitura para

anaeróbios facultativos: *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis* foi realizada após 48 horas de incubação a 10% de CO₂ (Figura 4.1.G).

Os raios das zonas de inibição microbiana (Figura 4.2.A e B), corresponderam à menor distância entre a superfície externa do cilindro e o início da região de crescimento microbiano, os quais foram medidos com o auxílio de paquímetro milimetrado (Trident, São Paulo,SP/ Brasil).

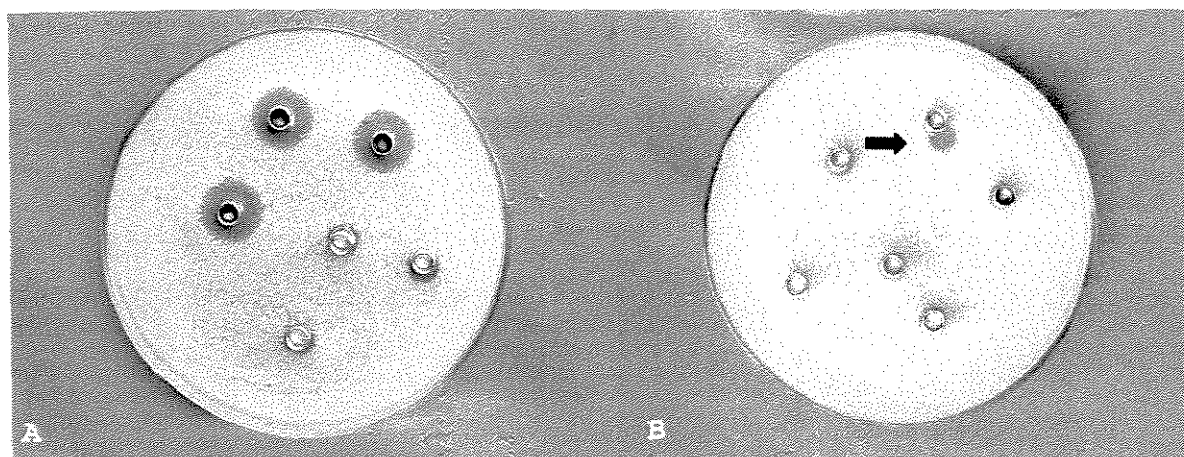


Fig.4.2- A- halos de inibição B- inibição por contato direto (seta) indicando tubo de inox descolado com esta finalidade.

4.2.2. MÉTODO DO CONTATO DIRETO EM MEIO LÍQUIDO, ATRAVÉS DA OBSERVAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO.

4.2.2.1. PREPARO DAS SUSPENSÕES MICROBIANAS

Os inóculos foram preparados de acordo com a metodologia citada no item 4.2.1.1.

Os organismos aeróbios e facultativos foram subcultivados em placas de BHI e incubados por 18-24 h a 37°C em condições gasosas adequadas.

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas de aeróbios e facultativos foram suspensas em tubos contendo 5 mL de BHI. Após agitação mecânica, a suspensão era ajustada em espectrofotômetro (432 FEMTO, Marconi-SP/Brasil) com transmitância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0,5 da escala de Mc Farland (1.5×10^8 bactéria/mL). O volume final da suspensão foi mantida em 5 mL.

4.2.2.2. PREPARO DOS CIMENTOS

Os cimentos foram preparados de acordo com a metodologia descrita no item 4.2.1.3 (Figura 4.3.A).

Entretanto, para termos sempre o mesmo volume de cimento, foram utilizadas placas de silicone contendo perfurações de diâmetro 5mm x 4mm de espessura, onde eram inseridos os cimentos até o momento de sua utilização (Figuras 4.3.B,C e D). No experimento, a quantidade de cimento em cada perfuração era equivalente a 0,2 mL (200µL). Tais placas foram adequadamente conservadas a 37°C.

Seringas estéreis de 3 mL foram utilizadas para introduzir 0,2 mL (200µL) do cimento recém preparado nos tubos com BHI contendo ou não suspensão microbiana.

4.2.2.3. LEITURA DA CURVA DE CRESCIMENTO EM BHI LIQUIDO

Nos tubos com o conjunto BHI + inóculo + cimento foram efetuadas leituras no

espectrofotômetro de hora em hora, até a 18ª hora consecutiva (Figuras 4.3.E e F). Nos intervalos da leitura, o conjunto foi mantido em condições gasosas apropriadas.

Procedimento similar de leitura no espectrofotômetro foi realizado no mesmo período, nos tubos de BHI com inóculo, sem a adição dos cimentos obturadores para observarmos apenas a curva de crescimento dos microrganismos.

O valor da Transmitância do padrão Mc Farland 0,5 equivale a 90. Quanto maior o valor da Transmitância, maior é a passagem da luz. Por conseguinte, no nosso experimento isto representa menor crescimento microbiano ou seja, maior atividade antimicrobiana.

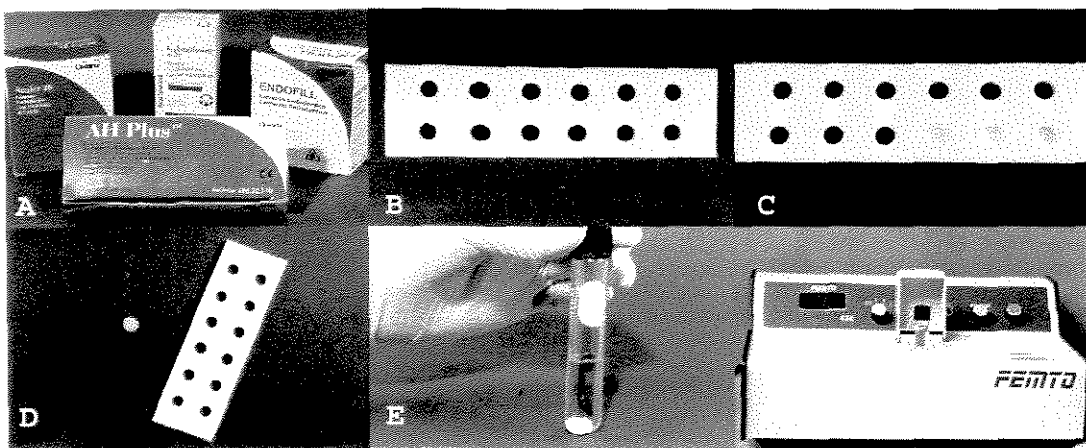


Fig.4.3. A- cimentos B-placa de silicone C- placa de silicone preenchida com cimento D-corpo de prova retirado da placa E- BHI + inóculo + cimento F- leitura em espectrofotômetro.

4.2.2.4. LEITURA DO TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO CONJUNTO: CIMENTO E BHI

Para o conjunto cimentos + BHI, também foram feitas as leituras nos tempos

descritos no item 4.2.2.3 .

4.2.2.5. OBSERVAÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI ágar sangue

De cada tubo contendo BHI + inóculo + cimento, foram retirada de 4 em 4 horas aliquotas de 10 µL as quais foram inoculadas em placas de BHI ágar, contendo 5% de sangue de carneiro desfibrinado. As placas foram então incubadas por 18-24 h a 37°C em condições gasosas adequadas.

Procedimento similar foi realizado com os tubos contendo apenas BHI + inóculo, para constataremos o crescimento microbiano.

Entretanto para tubos contendo BHI + cimento e tubos contendo BHI puro também foram feitas placas apenas para confirmar a manutenção da cadeia asséptica durante a execução dos experimentos.

4.2.2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através das médias dos halos (em milímetro) de inibição do cimento em função do microrganismo nas condições de tempo de presa dos cimentos utilizando-se o teste de Kruskal Wallis.

Os resultados obtidos através do método do contato direto em meio líquido para observação da curva de crescimento microbiano foram analisados estatisticamente utilizando o teste ANOVA (Statistics for Windows - Version 5.1. Stat Soft Inc., 1997).

5. RESULTADOS

5.1. MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR

Tabelas 3.1.1 a 3.1.4 (Anexo 3) e Quadro 5.1.1 mostram a atividade antimicrobiana de todos os cimentos testados em todos os tempos após manipulação.

5.1.1. CIMENTOS X MICRORGANISMOS

Quadro 5.1.2 mostra a atividade antimicrobiana de cada cimento contra todos os microrganismos testados, através da média dos halos de inibição, em milímetros, nos quatro tempos avaliados.

O cimento que teve maior zona de inibição contra todos os microrganismos testados foi o Endo-Fill ($n = 1,07$ mm), seguido do Endométhasone ($n = 0,99$ mm). Por outro lado o Sealer 26 foi o que teve menor zona de inibição ($n = 0,06$ mm)

5.1.2. MICRORGANISMOS X CIMENTOS

C. albicans ($n = 0,88$ mm) apresentou maior média da zona de inibição frente à todos os cimentos testados seguido de *A. naeslundii* ($n = 0,75$ mm) enquanto *E. faecalis* ($n=0,20$ mm) teve menor média da zona de inibição (Quadro 5.1.2).

Quadro 5.1.1 Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos (média das zonas de inibição em mm) – Método de difusão em agar

Tempo de manipulação / Microrganismos	CIMENTOS			
	Endo-Fill	Endométhasone	Sealer 26	AH-Plus
Imediato				
<i>C. albicans</i>	2,6	3,3	0*	1,0
<i>A. naeslundii</i>	3,2	3,5	0,3	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	3,3	0*	0*
<i>S. aureus</i>	1,0	5,3	1,0	1,3
<i>S. sanguis</i>	2,0	3,0	0*	1,8
24 horas				
<i>C. albicans</i>	2,3	0,7	0*	1,0
<i>A. naeslundii</i>	2,3	0*	0*	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. aureus</i>	0*	0,7	0*	0*
<i>S. sanguis</i>	1,5	0*	0*	0*
48 horas				
<i>C. albicans</i>	1,6	0*	0*	0,5
<i>A. naeslundii</i>	1,5	0*	0*	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. aureus</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. sanguis</i>	1,0	0*	0*	0*
7 dias				
<i>C. albicans</i>	1,2	0*	0*	0*
<i>A. naeslundii</i>	1,2	0*	0*	0*
<i>E. faecalis</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. aureus</i>	0*	0*	0*	0*
<i>S. sanguis</i>	0*	0*	0*	0*

* inibição somente por contato direto

Quadro 5.1.2. Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos (média dos 4 tempos das zonas de inibição em mm) – Método de difusão em ágar

Microrganismos	Cimentos				Média da zona de inibição de cada microrganismo contra todos os cimentos testados
	Endo-Fill	Endométhasone	Sealer 26	AH Plus	
<i>C. albicans</i>	1,92	1,00	0*	0,62	0,88
<i>A. naeshundii</i>	2,05	0,87	0,07	0*	0,75
<i>E. faecalis</i>	0*	0,82	0*	0*	0,20
<i>S. aureus</i>	0,25	1,50	0,25	0,32	0,58
<i>S. sanguis</i>	1,12	0,75	0*	0,45	0,58
Média da zona de inibição de cada cimento contra todos os microrganismos	1,07	0,99	0,06	0,28	

* inibição somente por contato direto

5.2. Método do contato direto em meio líquido

Os resultados obtidos através do método do contato direto em meio líquido para observação da curva de crescimento microbiano foram analisados estatisticamente utilizando o teste ANOVA. A significância foi estabelecida em níveis de 1% e 5 %.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo que a parcela foi constituída pelo fatorial 4 x 5 x 4, respectivamente, cimento, bactéria e tempo de manipulação, e a subparcela pelos tempos de crescimento: inicial, 9 h e 18h.

A análise da variância revelou efeitos significativos ($P < 0,01$), para todos os efeitos principais estudados e para as interações .

5.2.1. CIMENTO X MICRORGANISMO

Ao estudar o efeito do cimento em cada microrganismo, verificou-se que nos microrganismos *Actinomyces naeslundii* e *Staphylococcus aureus*, o cimento Endo-Fill tem maior valor de "T" (Transmitância), isto é, maior atividade antimicrobiana ($P < 0,05$) em relação ao Sealer 26 (Tabelas 5.2.1.1 e 5.2.1.2).

Para o microrganismo *Enterococcus faecalis* não houve diferenças significativas entre os cimentos estudados (Tabela 5.2.1.3). Para o microrganismo *Streptococcus sanguis* os cimentos Endo-Fill e Endométhasone tiveram maior valor de "T" (Transmitância) ou seja maior atividade antimicrobiana ($P < 0,05$) sobre os demais, sendo que esses cimentos não diferiram entre si ($P < 0,05$) (Tabela 5.2.1.4). Para *Candida albicans* o cimento

Endométhasone obteve maior atividade antimicrobiana em relação ao Sealer 26 ($P < 0,05$) (Tabela 5.2.1.5).

Quadro 5.2.1 mostra a média da atividade antimicrobiana de todos os cimentos testados contra todos os microrganismos. O cimento com maior atividade antimicrobiana foi o Endo-Fill, seguido do Endométhasone. O de menor atividade antimicrobiana foi o Sealer 26.

Tabela 5.2.1.1. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Actinomyces naeshundii*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	12	49,66	a
2	3	ENDOMETHASONE	12	46,87	ab
3	1	AH-PLUS	12	41,34	ab
4	2	SEALER 26	12	34,04	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.2. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Staphylococcus aureus*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	12	66,61	a
2	1	AH-PLUS	12	60,87	a
3	3	ENDOMETHASONE	12	54,29	ab
4	2	SEALER 26	12	40,77	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.3. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Enterococcus faecalis*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	12	54,69	a
2	4	ENDO-FILL	12	36,79	a
3	1	AH-PLUS	12	35,94	a
4	2	SEALER 26	12	32,80	a

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.4. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação ao *Streptococcus sanguis*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	12	72,49	a
2	3	ENDOMETHASONE	12	62,61	a
3	1	AH-PLUS	12	47,66	b
4	2	SEALER 26	12	39,76	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.1.5. Teste de Tukey para as médias da atividade antimicrobiana dos cimentos testados em relação a *Candida albicans*

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	12	58,89	a
2	4	ENDO-FILL	12	51,87	ab
3	1	AH-PLUS	12	50,81	ab
4	2	SEALER 26	12	40,70	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 14,13487 - D.M.S. 1% = 17,56668

Quadro 5.2.1 Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos (média dos 4 tempos) – *Método de contato direto*

Microrganismos	Cimentos				Média da inibição do crescimento de cada microrganismo contra todos os cimentos testados
	Endo-Fill	Endométhasone	Sealer 26	AH Plus	
<i>C. albicans</i>	51,87	58,89	40,70	50,81	50,57
<i>A. naeshundii</i>	49,62	46,87	34,04	41,34	42,97
<i>E. faecalis</i>	36,79	45,69	32,80	35,94	37,80
<i>S. aureus</i>	66,61	54,29	40,77	60,87	55,63
<i>S. sanguis</i>	72,49	62,61	39,76	47,66	55,63
Média de inibição de cada cimento contra todos os microrganismos	55,48	53,67	37,61	47,32	

Maior média = maior valor de “T” (Transmitância)= < crescimento microbiano

5.2.2. MICRORGANISMOS X CIMENTOS

Estudando-se o efeito do microrganismo para cada tipo de cimento, independente do tempo após manipulação, verificou-se que no cimento AH-Plus, o microrganismo *Staphylococcus aureus* obteve um menor crescimento em relação aos microrganismos *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis*, e estes não diferiram ($P < 0,05$) entre si (Tabela 5.2.2.1).

No cimento Sealer 26 não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os microrganismos estudados (Tabela 5.2.2.2).

No cimento Endométhasone, *Streptococcus sanguis* obteve um menor crescimento ($P < 0,05$) em relação ao *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.2.3).

No cimento Endo-Fill, *Streptococcus sanguis* cresceu menos ($P < 0,05$) que *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.2.4).

Quadro 5.2.1 mostra a média da atividade antimicrobiana de todos os cimentos testados contra todos os microrganismos. Microrganismo mais resistente foi o *E. faecalis* e os mais sensíveis foram *S. sanguis* e *S. aureus*.

Tabela 5.2.2.1. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para AH Plus

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	60,87	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	50,81	ab
3	4	<i>S. sanguis</i>	12	47,66	ab
4	1	<i>A. naeshlundii</i>	12	41,34	b
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	35,94	b

Tabela 5.2.2.2 Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para Sealer 26

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	40,77	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	40,70	a
3	4	<i>S. sanguis</i>	12	39,76	a
4	1	<i>A. naeshlundii</i>	12	34,04	a
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	32,80	a

Tabela 5.2.2.3. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para Endométhasone

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	62,61	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	58,89	ab
3	3	<i>S. aureus</i>	12	54,29	ab
4	1	<i>A. naeshlundii</i>	12	46,87	b
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	45,69	b

Tabela 5.2.2.4. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano para Endo-Fill

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	72,49	a
2	3	<i>S. aureus</i>	12	66,61	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	12	51,87	bc
4	1	<i>A. naeshlundii</i>	12	49,62	cd
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	36,79	d

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 15,06139 - D.M.S. 1% = 18,44872

5.2.3. CIMENTO X TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO

O desdobramento da interação do cimento nos tempo de crescimento, verificou-se que no tempo de crescimento 1 (1ª hora) o Endométhasone foi o que mais inibiu o crescimento microbiano ($P < 0,05$), enquanto que o Sealer 26 foi o que menos inibiu (Tabela 5.2.3.1).

No tempo de crescimento de 9 horas, o Sealer 26 foi o que teve menor ação antimicrobiana ($P < 0,05$) em relação aos demais cimentos, os quais não diferiram entre si ($P > 0,05$) (Tabela 5.2.3.2).

No tempo de crescimento das 18 horas, os cimentos Endo-Fill e o Endométhasone não diferiram ($P < 0,05$) entre si e tiveram uma maior ação antimicrobiana em relação aos demais. O Sealer 26 foi o que demonstrou maior crescimento microbiano em relação aos demais (Tabela 5.2.3.3) e Tabelas 3.2.1.1. 1 a 3.2.1.4.5 (Anexo).

Tabela 5.2.3.1. Teste de Tukey para médias de inibição de crescimento microbiano no período de 1 hora

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	20	82,01	a
2	4	ENDO-FILL	20	80,98	ab
3	1	AH-PLUS	20	79,19	ab
4	2	SEALER 26	20	73,73	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.3.2. Teste de Tukey para médias de inibição de crescimento microbiano no período de 9 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	20	45,96	a
2	3	ENDOMETHASONE	20	44,50	a
3	1	AH-PLUS	20	38,15	a
4	2	SEALER 26	20	23,59	b

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

Tabela 5.2.3.3. Teste de Tukey para médias de inibição de crescimento microbiano no período de 18 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	20	39,84	a
2	3	ENDOMETHASONE	20	34,50	a
3	1	AH-PLUS	20	24,63	b
4	2	SEALER 26	20	12,52	c

Maior média = maior valor de "T" (Transmitância) = < crescimento microbiano

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 8,07099 - D.M.S. 1% = 9,87663

5.2.4. TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO X CIMENTOS

Ao estudar o tempo de crescimento microbiano dentro dos cimentos ocorreu um efeito quadrático ($P < 0,01$) do tempo de crescimento, indicando uma (variável) mínima às 17 horas para o cimento AH-Plus, 15 horas, para o Sealer 26 e para o Endo-Fill e Endométhasone o ponto mínimo foi de 16 horas (Figuras 3.2.3.1.1 - 3.2.3.1.4 -Anexo)

5.2.5. MICRORGANISMO X TEMPO DE CRESCIMENTO (SEM CIMENTO)

Analisando o tempo de crescimento de cada microrganismo, temos que no tempo de crescimento 1 (1ª hora), o microrganismo *Staphylococcus aureus* teve menor crescimento em relação ao *Actinomyces naeslundii* e *Streptococcus sanguis* ($P < 0,05$) (Tabela 5.2.5.1.).

No tempo de crescimento 9 horas, o microrganismo *Streptococcus sanguis* teve menor crescimento em relação à *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis* ($P < 0,05$), sendo este último inferior no tempo de crescimento (Tabela 5.2.5.2.).

No tempo de 18 horas o microrganismo *Streptococcus sanguis* foi o que teve menor crescimento ($P < 0,05$) em relação ao *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.5.3.).

Tabela 5.2.5.1. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano no tempo de 1 hora

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	16	85,74	a
2	5	<i>C. albicans</i>	16	80,14	ab
3	2	<i>E. faecalis</i>	16	79,91	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	16	75,06	b
5	4	<i>S. sanguis</i>	16	74,03	b

Tabela 5.2.5.2. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano no tempo de 9 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	16	53,07	a
2	3	<i>S. aureus</i>	16	48,15	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	16	41,99	b
4	1	<i>A. naeslundii</i>	16	29,47	c
5	2	<i>E. faecalis</i>	16	17,57	d

Tabela 5.2.5.3. Teste de Tukey para médias de crescimento microbiano no tempo de 18 horas

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	16	39,78	a
2	3	<i>S. aureus</i>	16	33,01	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	16	29,57	b
4	1	<i>A. naeslundii</i>	16	24,37	bc
5	2	<i>E. faecalis</i>	16	15,94	c

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 9,59279 - D.M.S. 1% = 11,56291

5.2.6. CIMENTO X TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO

Desdobrando-se a interação cimento dentro de cada tempo de manipulação (imediato, 24 h, 48 h e 7 dias), verificou-se que no tempo testemunha (imediato), os cimentos Endo-Fill e o Endométhasone obtiveram maior atividade antimicrobiana ($P < 0,05$) aos demais e estes últimos não diferiram entre si ($P > 0,05$), e o Sealer 26 foi o inferior (Tabela 5.2.6.1). Nos outros tempos não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os cimentos estudados (Tabelas 5.2.6.2.- 5.2.6.4).

Tabela 5.2.6.1. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo imediato

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	ENDOMETHASONE	15	75,01	a
2	4	ENDO-FILL	15	66,93	a
3	1	AH-PLUS	15	51,43	b
4	2	SEALER 26	15	20,42	c

Tabela 5.2.6.2. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo de 24 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	15	55,63	a
2	3	ENDOMETHASONE	15	51,28	a
3	1	AH-PLUS	15	48,27	a
4	2	SEALER 26	15	46,05	a

Tabela 5.2.6.3. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo de 48 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	15	49,97	a
2	1	AH-PLUS	15	45,48	a
3	3	ENDOMETHASONE	15	44,97	a
4	2	SEALER 26	15	42,36	a

Tabela 5.2.6.4. Teste de Tukey para médias de atividade antimicrobiana no tempo de 7 dias após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	ENDO-FILL	15	49,39	a
2	1	AH-PLUS	15	44,11	a
3	3	ENDOMETHASONE	15	43,41	a
4	2	SEALER 26	15	41,63	a

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 12,64262 - D.M.S. 1% = 15,71211

5.2.7. TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO X MICRORGANISMOS

O estudo do tempo após manipulação dentro do cimento AH-Plus verificou-se que não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre a manipulação imediata e cada um dos outros tempos (Tabela 5.2.7.1).

Nos demais cimentos a testemunha diferiu significativamente ($P<0,05$) de cada tempo (Tabelas 5.2.7.2- 5.2.7.4).

Ao estudar o efeito dos tempos 24, 48h e 7dias dentro de cada cimento, verificou-se que não houve diferenças significativas entre os tempos estudados (Tabelas 5.2.7.1 -5.2.7.4).

Tabela 5.2.7.1. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de AH Plus em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	51,43		
2	4	24 h	15	48,27	NS	NS
3	3	48 h	15	45,48	NS	NS
4	2	7 dias	15	44,11	NS	NS

Tabela 5.2.7.2. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de Sealer 26 em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	20,42		
2	2	24 h	15	46,05	**	**
3	3	48 h	15	42,36	**	**
4	4	7 dias	15	41,63	**	**

Tabela 5.2.7.3. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de Endomethasone em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	75,01		
2	2	24 h	15	51,28	**	**
3	3	48 h	15	44,97	**	**
4	4	7 dias	15	43,41	**	**

Tabela 5.2.7.4. Teste Unilateral de Dunnett para Transmitância de Endo-Fill em relação ao tempo após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%	1%
Imediato		0	15	66,93		
2	2	24 h	15	55,63	**	NS
3	3	48 h	15	49,97	**	**
4	4	7 dias	15	49,39	**	**

** Tratamentos que diferem da testemunha (tempo imediato)

NS – Tratamentos que não diferem da testemunha

D.M.S. 5%= 10,02257 D.M.S. 1%= 13,31342

5.2.8. MICRORGANISMOS X TEMPO DE MANIPULAÇÃO

Ao estudar microrganismo dentro do tempo de manipulação imediata verificou-se que o microrganismo *Staphylococcus aureus* teve menor crescimento em relação aos microrganismos *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis* ($P < 0,05$), sendo que esses últimos não diferiram entre si ($P > 0,05$) (Tabela 5.2.8.1).

No tempo 24 horas após manipulação os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sanguis* tiveram menor crescimento ($P < 0,05$) em relação ao *Enterococcus faecalis* (Tabela 5.2.8.2.).

Nos tempos 48 horas e 7 dias após manipulação, o microrganismo *Streptococcus sanguis* foi o que teve menor crescimento, diferindo do *Enterococcus faecalis* ($P < 0,05$) (Tabelas 5.2.8.3-5.2.8.4).

Estudando-se o tempo dentro dos microrganismos, verificou-se que não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) do tempo de manipulação imediato com cada um dos demais tempos para os microrganismos *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis*. Entretanto para *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* o imediato diferiu significativamente ($P < 0,05$) somente para o tempo 24 horas (Tabelas 5.2.8.1.-5.2.8.4).

Tabela 5.2.8.1. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo imediato

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	70,05	a
2	5	<i>C. albicans</i>	12	56,97	ab
3	4	<i>S. sanguis</i>	12	50,81	b
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	46,97	b
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	42,44	b

Tabela 5.2.8.2. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo de 24 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	3	<i>S. aureus</i>	12	60,21	a
2	4	<i>S. sanguis</i>	12	59,57	a
3	5	<i>C. albicans</i>	12	54,80	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	40,09	bc
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	36,87	c

Tabela 5.2.8.3. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo de 48 horas após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	56,96	a
2	3	<i>S. aureus</i>	12	47,12	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	12	45,55	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	42,27	ab
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	36,38	b

Tabela 5.2.8.4. Teste de Tukey para microrganismos em relação ao tempo 7 dias após manipulação

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	<i>S. sanguis</i>	12	55,18	a
2	3	<i>S. aureus</i>	12	45,17	ab
3	5	<i>C. albicans</i>	12	44,75	ab
4	1	<i>A. naeslundii</i>	12	42,54	ab
5	2	<i>E. faecalis</i>	12	35,52	b

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 15,06139 - D.M.S. 1% = 18,44872

5.2.9. DISSOLUÇÃO DOS CIMENTOS.

O delineamento usado foi o inteiramente ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo que a parcela foi constituída pelo fatorial 4 x 4 , respectivamente, cimento e tempo, e a subparcela pelos tempos de crescimento (0, 9 e 18 horas).

A análise da variância revelou efeito significativo ($P < 0.01$) somente do Tempo de Dissolução, apesar do Sealer 26 ter mostrado um valor menor que os demais.

A análise da regressão indicou um efeito linear negativo ($b = -1,4049683$) ($P < 0.01$) da (variável) sobre o tempo de crescimento. Não ocorreram diferenças significativas ($P > 0.01$) entre os cimentos e o tempo de manipulação (imediato, 24 h, 48 h, e 7 dias) (Tabela 5.2.9.1) e (Tabelas 3.2.2.1 a 3.2.2.4 e Figura 3.2.5.1. - Anexo).

Tabela 5.2.9.1. Teste de Tukey para média de dissolução dos cimentos

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MÉDIAS	5%
1	4	AH-PLUS	12	91,67	a
2	1	ENDO-FILL	12	84,99	a
3	2	ENDOMETHASONE	12	82,07	a
4	3	SEALER 26	12	67,15	a

MÉDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 43,89101 - D.M.S. 1% = 60,33625

5.2.10. CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACAS DE BHI-ÁGAR-SANGUE

As Tabelas 5.2.10.1. - 5.2.10.4 mostram o crescimento microbiano em placas de BHI-ágar sangue dos cimentos testados frente aos microrganismos estudados.

O crescimento microbiano em placas de BHI-ágar-sangue foi positivo quando o teste de transmitância foi baixo, ou seja houve pouca inibição de crescimento microbiano. Por outro lado, quando foi negativo estava relacionado a altos valores de transmitância.

Tabela 5.2.10.1. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI - ágar - sangue no cimento Endo-Fill x microrganismos.

ENDO-FILL												
Placas Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nasslundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sonnei</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

Tabela 5.2.10.2. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI ágar-sangue no cimento Endométhasone x microorganismos.

ENDOMETHASONE												
Placas/ Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nceslundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

Tabela 5.2.10.3. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI-ágar -sangue no cimento Sealer 26 x microrganismos.

SEALER 26													
Placas Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nuxemidii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

Tabela 5.2.10.4. Teste do crescimento microbiano em placas de BHI - ágar -sangue no cimento AH-Plus x microrganismos.

AH-PLUS												
Placas Horas	Imediata			24 horas			48 horas			7 dias		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>C. albicans</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	2	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. nesterlundii</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. sanguis</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ (presença de crescimento microbiano) - (ausência de crescimento microbiano)

5.3. MÉTODO DE DIFUSÃO NO ÁGAR X MÉTODO DO CONTATO DIRETO

O Quadro 5.3.1 confronta a atividade antimicrobiana entre os métodos utilizados. Pudemos observar que o cimento Endo-Fill foi o que teve maior ação antimicrobiana em ambas as metodologias em relação aos microrganismos *Actinomyces naeslundii* e o *Streptococcus sanguis*.

Quadro 5.3.1. Atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos x microrganismos aeróbios e facultativos. – Método de difusão em ágar x Contato direto

<i>C. albicans</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	1,92	51,87	NS
Endométhasone	1,0	58,89	NS
Sealer 26	0	40,70	NS
AH Plus	0,62	50,81	NS
<i>A. naeslundii</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	2,05	49,62	NS
Endométhasone	0,87	46,87	NS
Sealer 26	0,07	34,04	NS
AH Plus	0	41,34	NS
<i>E. faecalis</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	0	36,79	NS
Endométhasone	0,82	45,69	NS
Sealer 26	0	32,80	NS
AH Plus	0	35,94	NS
<i>S. aureus</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	0,25	66,61	NS
Endométhasone	1,50	54,29	NS
Sealer 26	0,25	40,77	NS
AH Plus	0,32	60,87	NS
<i>S. sanguis</i>	HALO	TRANSMITÂNCIA	DISSOLUÇÃO
Endo Fill	1,12	72,49	NS
Endométhasone	0,75	62,61	NS
Sealer 26	0	39,76	NS
AH Plus	0,45	47,66	NS

6. DISCUSSÃO

Na busca de um cimento obturador de canais radiculares ideal, inúmeras pesquisas foram e estão sendo realizadas tanto no que concerne às propriedades físico-químicas como, nas propriedades biológicas e nas antimicrobianas.

Essas linhas de pesquisa tentam obter um cimento obturador do canal radicular ideal, ou seja, que apresente boas propriedades físico-químicas, boa biocompatibilidade e ainda, que tenha atividade antimicrobiana.

6.1. MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR

Diante dos nossos resultados, pudemos observar que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (Endo-Fill e Endométhasone), apresentaram os maiores halos de inibição de crescimento microbiano, quando se utilizou *C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *A. naeslundii*, *S. sanguis*, nos períodos experimentais de manipulação imediata, após 24h, e 48h e 7 dias. Os cimentos resinosos Sealer 26 e AH-Plus mostraram os menores halos de inibição nas mesmas condições do experimento. Estes resultados mostram que os cimentos endodônticos apresentam diferenças na atividade antimicrobiana quando se avalia os halos de inibição por eles produzidos.

O cimento à base de óxido de zinco e eugenol, Endo-Fill, apresenta o eugenol como componente líquido, o qual tem uma grande atividade antibacteriana, o que pode

explicar em parte a sua atividade antimicrobiana neste estudo (HUME, 1988; SIQUEIRA et al, 2000). Os nossos resultados vão ao encontro de outros achados, os quais mostraram um grande halo de inibição utilizando Fill Canal (cimento endodôntico que possui a mesma formulação do cimento endodôntico Endo-Fill) para bactérias como *S. aureus*, *A. naeshlundii*, dentre outras, as quais também foram utilizadas em nosso estudo (Al-KHATIB et al., 1990; SIQUEIRA & GONÇALVES, 1996; LEONARDO, M.R. et al, 2000).

De acordo com ONOSE et al, (1969) quando se utilizou *S. aureus*, "*S. faecalis*" e *E. coli*, o cimento Fill Canal foi ativo somente imediatamente a manipulação. No presente estudo, em contraste com os resultados de ONOSE et al, (1969) observou-se uma manutenção do efeito antimicrobiano até 7 dias para *Candida albicans* e *Actinomyces naeshlundii*. Contudo, segundo KAPLAN et al, (1999) com a utilização de cimento de óxido de zinco com formulação similar a do Endo-Fill (Procosol, cimento de Grossman), observou-se relativa efetividade contra *C. albicans*, *S. aureus*, sendo que nenhum desses microrganismos foi inibido em 2 dias, indicando que a liberação de eugenol ocorre após longo intervalo de tempo. Nossos resultados estão de acordo com os de PUPO et al (1983).

BIRAL & NASCIMENTO (1973), ao analisarem a ação antimicrobiana, pelo método de difusão em ágar do cimento Fill Canal, e outros cimentos, verificaram marcada diminuição de atividade antimicrobiana com o passar do tempo. O que está de acordo com os nossos resultados, onde foi observada uma diminuição da atividade inibitória a partir de 24 horas para *S. aureus*. Para o *Enterococcus faecalis*, Fill Canal só foi efetivo em contato direto, não criando nenhum halo de inibição de crescimento microbiano.

O cimento endodôntico Endométhasone possui uma composição similar ao Endo-Fill. CANALDA & PUMAROLA (1989) observaram que os maiores halos ocorreram com o Endométhasone que possui paraformaldeído em sua composição além do eugenol. O que também foi encontrado por ORSTAVIK & MJOR (1988); DUARTE et al.(1997), os quais observaram que os materiais que contêm paraformaldeído na formulação, como o Endométhasone, apresentaram atividade antimicrobiana pronunciada mesmo após o endurecimento.

PUPPO et al. (1983), mostraram que o Endométhasone, quando ainda na fase plástica, apresentou os maiores halos de inibição. Após 3 dias de manipulação este cimento só apresentou halo de inibição para a *E.coli*. Sendo que a ação antimicrobiana do Endométhasone é mais apropriada para complementar a anti-sepsia do canal. Porém, ressaltam que a perda do poder com o tempo pode favorecer nova contaminação do canal por bactérias da saliva ou, então do sangue, durante uma bacteremia. Estes achados corroboram com os do presente estudo, onde encontrou-se uma maior atividade antimicrobiana para o cimento Endométhasone nos períodos iniciais, sendo que após 24 horas houve uma diminuição significativa da atividade antimicrobiana e a partir de 48 h não houve mais halo de inibição.

O Sealer 26 é cimento endodôntico resinoso com hidróxido de cálcio em sua composição e mostrou uma inibição microbiana menor que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, contudo similar (embora menor) à inibição obtida com o cimento endodôntico AH-Plus que também é resinoso. Este resultado está em desacordo com outros resultados, os quais mostram uma boa atividade antimicrobiana relacionada ao Sealer 26

(Al-KHATIB et al., 1990; SIQUEIRA JR. & GONÇALVES, 1996; SIQUEIRA et al, 2000). A relatada atividade antimicrobiana pode ser devida à liberação de formaldeído antes da presa como acontece para o AH-26 durante a reação de polimerização. Esta reação é observada entre a resina bisfenol A e a hexametilenotetramina, obtida a partir da condensação do amoníaco com o formaldeído, sendo que esta ocorre em maior escala nas primeiras 48 horas, isto é, durante a sua reação de polimerização (PUPO et al, 1983).

O cimento endodôntico AH-Plus é similar ao cimento AH26, sendo que o primeiro possui silicona e aerosil, e o formaldeído foi eliminado da fórmula. Neste estudo, o cimento AH-Plus mostrou um efeito inibitório pequeno para *C. albicans* e *S. aureus*, KAPLAN et al, 1999, observaram nenhum efeito inibitório para o AH-Plus sobre estes microrganismos. Entretanto, a maioria dos trabalhos mostram um halo inibição menor para o AH-Plus em relação aos cimentos de óxido de zinco/eugenol (KAPLAN et al, 1999; LEONARDO, M. R. et al, 2000; SIQUEIRA et al, 2000)

6.2. O MÉTODO DO CONTATO DIRETO EM MEIO LÍQUIDO PARA OBSERVAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO FOI UTILIZADO.

Na literatura pesquisada não se identificou trabalhos utilizando a metodologia empregada no presente estudo que foi uma adaptação das metodologias de WEISS et al (1996) e SHALHAV et al (1997). Entretanto, estes autores utilizaram diferentes cimentos tornando dessa maneira impossível discutir comparativamente os resultados.

O cimento com maior atividade antimicrobiana foi o Endo-Fill, seguido do Endométhasone. O de menor atividade antimicrobiana foi o Sealer 26.

E. faecalis foi o microrganismo mais resistente e *S. sanguis* e *S. aureus* os mais sensíveis.

6.3. MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR X MÉTODO DE CONTATO DIRETO

Apesar de teoricamente não podermos comparar resultados obtidos de metodologias diferentes, tentamos observar a correlação entre as médias dos halos de inibição de crescimento microbiano em relação à cada cimento em todos os tempos de manipulação para cada microrganismo utilizado e as médias de transmitância obtidas para cada cimento em todos os tempos de manipulação e para cada microrganismo utilizado (Quadro 5.3.1).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de dissolução dos cimentos (Tabela 5.2.9.1) e (Figura 3.2.5.1 - Anexo). Portanto, não foi utilizada esta variável na comparação dos resultados.

Obteve-se que para a bactéria *Actinomyces naeshundii* o maior halo de inibição de crescimento bacteriano e o maior valor de transmitância (maior atividade antimicrobiana) se deu com a utilização do cimento Endo-Fill, desta forma, houve uma correlação entre os resultados das metodologias utilizadas para esta bactéria.

Para *Staphylococcus aureus* observou-se que o cimento com maior halo de inibição de crescimento bacteriano foi o Endométhasone, enquanto o maior valor de transmitância se deu com o cimento Endo-Fill, não ocorrendo correlação entre os métodos empregados.

Quando se utilizou *Enterococcus faecalis* não se pode avaliar a correlação entre os resultados das duas metodologias aplicadas, pois não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de transmitância. Entretanto, o cimento Endométhasone apresentou o maior halo de inibição.

Houve uma correlação entre os resultados das duas metodologias em relação ao *Streptococcus sanguis*, pois o maior halo de inibição de crescimento bacteriano se deu com o cimento Endométhasone, e este cimento apresentou juntamente com o Endo-Fill, os maiores valores de transmitância.

A correlação entre os resultados das metodologias também não foi encontrada para a *Candida albicans*, pois o cimento Endo-Fill apresentou o maior halo de inibição do crescimento bacteriano, enquanto o cimento Endométhasone apresentou o maior valor de transmitância.

As diferenças entre as metodologias podem ser devidas à:

- 1- contato entre a superfície do corpo de prova e o meio com inóculo bacteriano, sendo que para o método de difusão em ágar, somente a superfície basal do corpo de prova entra em contato com o meio (área) e para o método de contato direto, o corpo de prova como um todo fica em contato com o meio (volume)
- 2- Dissolução do cimento, sendo que no método de difusão em ágar o cimento não fica submerso e portanto, sofre menos dissolução que no método de contato direto, no qual o corpo de prova fica submerso no meio.

Os testes laboratoriais de qualquer espécie são o primeiro passo no estudo da efetividade antimicrobiana de cimentos em um estudo *in vitro* e depende do pH do substrato nas placas ou tubos, sensibilidade da droga, origem microbiana (clínica ou de coleção), número de microrganismos inoculados, tempo de incubação, e atividade metabólica dos microrganismos. Por outro lado, a duração da efetividade da droga, temperatura, contaminação e possível infiltração do agente de dentro da boca deve ser considerado nos trabalhos *in vivo* (UPDEGRAFF et al, 1971; AYAN *et al.*, 1999).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições experimentais usadas neste estudo, pudemos concluir que a atividade antimicrobiana de cada cimento diminui com o decorrer do tempo e depende da vulnerabilidade do microrganismo envolvido.

Em relação ao método de difusão em ágar:

1. Todos os cimentos tiveram ação antimicrobiana pelo menos por contato direto;
2. Os cimentos endodônticos testados apresentaram variações de atividade antimicrobiana, sendo esta, de um modo geral, mais pronunciada nos estágios iniciais de manipulação;
3. O cimento que teve maior zona de inibição contra todos os microrganismos testados foi o Endo-Fill, seguido do Endométhasone. Por outro lado o Sealer 26 foi o que teve menor zona de inibição.
4. *C. albicans* apresentou maior zona de inibição frente à todos os cimentos testados seguido de *A. naeshlundii*, enquanto *E. faecalis* teve menor zona de inibição.

Em relação ao método de contato direto:

1. No tempo de manipulação imediato, Endo-Fill e Endométhasone tiveram maior ação antimicrobiana, sendo que não diferiram entre si. O Sealer 26 foi o que

teve menor ação antimicrobiana;

2. Nos demais tempos após manipulação não houve diferenças estatisticamente diferentes entre os cimentos estudados.

3. O cimento com maior atividade antimicrobiana foi o Endo-Fill, seguido do Endométhasone. O de menor atividade antimicrobiana foi o Sealer 26.

4. Microrganismos mais sensíveis foram *S. sanguis* e *S. aureus*, enquanto *que* o mais resistente foi o *E. faecalis*.

5. Não houve diferença estatisticamente significativa quanto a dissolução dos cimentos.

SUMMARY

The antimicrobial activity is an important property of an endodontic sealer during the root canal filling. Thus, the objective of the present study was to analyze the antimicrobial properties of endodontic sealers. For these reasons four sealers were used: Endo-Fill, Endométhasone, Sealer 26 and AH-Plus, in different moments after manipulation: immediately, 24 hours, 48 hours and 7 days, against five microorganisms: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces naeshundii*. Two methods were used: a) agar diffusion method and b) direct contact trough the observation of the microbial growth in liquid media. In relation to the agar diffusion method the results showed that: 1) All tested sealers showed variation in antimicrobial activity, generally, more pronounced immediately after manipulation; 2) All sealers had antimicrobial activity at least by direct contact; 3) Endo-Fill presented larger inhibition haloes during the experimental periods, mainly in relation to *Candida albicans* and *Actinomyces naeshundii*, for *Streptococcus sanguis* it happened only until 48 hours after the sealer manipulation. There was antimicrobial action only under direct contact with *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*; 4) AH Plus for the *Candida albicans* presented antimicrobial activity up to 48 hours after manipulation; 5) Endométhasone just showed antimicrobial activity against all bacteria after immediately prepared and showed marked decrease in its activity with the increase of storage time; 6) Sealer 26 was effective only under direct contact in every time tested except for the *Staphylococcus aureus* that presented small inhibition haloe in the immediate period; 7) *Enterococcus faecalis* was the most resistant microorganism and *Candida albicans* the most susceptible. In relation to the direct contact method the results were the following: 1) In the immediate manipulation time Endo-Fill and

Endométhasone presented the largest antimicrobial activity and there was no statistically significant difference between them. However, Sealer 26 had the smallest antimicrobial activity; 2) In the other manipulation times there were no statistically significant differences among the sealers tested; 3) For *Actinomyces naeshundii* and *Staphylococcus aureus* the sealer that presented the greatest antimicrobial activity was Endo-Fill; 4) For *Enterococcus faecalis* there was no statistically significant difference among the sealers in relation to the antimicrobial activity; 5) For *Streptococcus sanguis*, Endo-Fill and Endométhasone presented the greatest antimicrobial activity; 6) For *Candida albicans* Endométhasone presented the greatest antimicrobial activity; 7) *Enterococcus faecalis* was the most resistant microorganism and *Streptococcus sanguis* and *Staphylococcus aureus* the most susceptibles; 8) There was no statistically significant differences in relation to the sealers dissolution. It was concluded that the antimicrobial activity of each sealer decreases by the time and depends on the microbial susceptibility to them.

Key words: endodontic sealer, antimicrobial activity, microorganism.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ABDULKADER, A., DUGUID, R., SAUNDERS, E.M. The antimicrobial activity of endodontic sealers to anaerobic bacteria. **Int Endod J**, Oxford, v.29, n.4, p.280-283, 1996.
- AKPATA, E.S., BLECHMAN, H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. **J Dent Res**, Washington, v.61, n.2, p.435-438, Feb. 1982.
- AL-KHATAR, N., KUNZELMANN, K.H., HICKEL, R. Apical leakage of new root canal sealers. **J Dent Res**, Washington, v.74, n.3, p.945, 1995. [Abstract, 273]
- AL-KHATIB, Z.Z. *et al.* The antimicrobial effect of various endodontic sealers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.70, n.6, p.784-790, Dec. 1990.
- ALMEIDA, W.A. **Cimentos obturadores de canais radiculares. Avaliação histológica da resposta dos tecidos apicais e periapicais em dentes de cães após biopulpectomia. Estudo da infiltração marginal apical.** Araraquara, 1997. 117p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
- AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. **Specification n. 57 for endodontic filling materials.** Chicago : ADA, 1983.
- ANDO, N., HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobics invading the deep layers of root canal dentine. **Int Endod J**, Oxford, v.23, n.1, p.20-27, 1990.
- AYHAN, H. *et al.* Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **Int Endod J**, Oxford, v.32, n.2, p.99-102, Mar. 1999.

* De acordo com a NBR-6023 de 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviaturas de periódicos de conformidade com a Base de Dados MEDLINE.

- BARBOSA, S.V., ARAKI, K., SPANGBERG, L.S.W. Citotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.75, n.3, p.357-361, Mar. 1993.
- BARKHORDAR, R.A. Evaluation of antimicrobial activity in vitro of ten root canal sealers on *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.68, n.6, p.770-772, 1989.
- BATCHELOR, R.F., WILSON, A.D. Zinc oxide-eugenol cements. I. The effect of atmospheric conditions on rheological properties. **J Dent Res**, Washington, v.48, n.5, p.883-887, 1969.
- BAUMGARTNER, J.C. Endodontic microbiology. In: WALTON, R.E., TORABINEJAD, M. (Ed.) **Principles and practice of endodontics**. Philadelphia : Saunders, 1996. p.277-291.
- _____, FALKLER JR., W.A. Bacteria in apical 5 mm of infected root canals. **J Endod**, Baltimore, v.17, n.8, p.380-383, 1991.
- BENATTI, O., STOLF, W.L., RUHNKE, L.A. Verification of the consistency, setting time and dimensional changes of root canal filling materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.46, n.1, p.107-113, 1978.
- BERBERT, A. **Comportamento dos tecidos apicais e periapicais após biopulpectomia e obturação do canal com AH26, hidróxido de cálcio ou mistura de ambos. Estudo histológico em dentes de cães**. Bauru, 1978. 178p. Tese (Livre docência) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- BERGENHOLTZ, G. Microorganisms from necrotic pulps of traumatized teeth. **Odontol Revy**, Lund, v.25, n.4, p.347-358, 1974.

- BERGENHOLTZ, G., CRAWFORD, J.J. Endodontic microbiology. *In*: WALTON, R.E., TORABINEJAD, M. (Ed.) **Principles and practice of endodontics**. Philadelphia : Saunders, 1989. p.267-282.
- BIRAL, R.R., NASCIMENTO, A. Efeito inibidor de crescimento bacteriano de algumas pastas obturadoras usadas em canais radiculares dentais. Estudo *in vitro*. **Rev Farm Odontol**, Rio de Janeiro, v.39, n.385, p.148-150, 1973.
- BIVEN, G.M., BAPNA, M.S., HEVER, M.A. Effect to eugenol and eugenol-containing root canal sealers on the microhardness of human dentin. **J Dent Res**, Washington, v.51, n.6, p.1602-1609, Nov./Dec. 1972.
- BONETTI FILHO, I. **Avaliação da biocompatibilidade de quatro técnicas de obturação de canais radiculares. Estudo em dentes de cães**. Araraquara, 1990. 110p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
- _____. *et al.* Capacidade seladora de novos cimentos obturadores através da infiltração do corante azul de metileno à 2%. **RGO**, Porto Alegre, v.43, n.4, p.221-224, 1995.
- BORSSÉN, E., SUNDQVIST, G. *Actinomyces* in infected dental root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.51, n.6, p.643-648, 1981
- BRANSTETTER, J., FRAUNHOFER, J.A. The physical properties and sealing action of endodontic sealer cements: a review of the literature. **J Endod**, Baltimore, v.8, n.7, p.312-316, 1982.
- BYSTRÖN, A. *et al.* Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.3, n.2, p.58-63, 1987.
- CALLAHAN, J.R. The sulfuric acid for opening root canals. **Dent Cosmos**, Philadelphia, v.36, p.329-331, 1894.

- CANALDA, C., PUMAROLA, J. Bacterial growth inhibition produced by root canal sealer cements with a calcium hydroxide base. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.68, n.1, p.99-102, 1989.
- CONHEN, B.I. *et al.* An *in vitro* study of the cytotoxicity of two root canal sealers. **J Endod**, Baltimore, v.26, n.4, p.228-229, 2000.
- CURSON, I., KIRK, E.E.J. An assesment of root canal sealing cements. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.26, p.229-236, 1968.
- DAHLE, U.R., TRONSTAD, L., OLSEN, I. Spirochetes in oral infections. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.9, n.3, p.87-94, June 1993.
- DAHLÉN, G., MÖLLER, A.J.R. Microbiology of endodontic infections. *In*: SLOTS, J., TAUBMAN, M.A. **Contemporary oral microbiology and immunology**. Saint Louis: Mosby, 1992. p.444-475.
- DEBELIAN, G.J., OLSEN, I., TRONSTAD, L. Bacteremia in conjunction with endodontic therapy. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.11, n.3, p.142-149, 1995.
- _____. *et al.* Rybotyping of bacteria from root canal and blood of patients receiving endodontic therapy. **Anaerobe**, London, v.3, p.237-243, 1997.
- DE DEUS, Q.D. Frequency, location, and direction of the lateral, secondary, and accessory canal. **J Endod**, Baltimore, v.1, n.11, p.361-366, Nov. 1975.
- 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 Sao Paulo**, São Paulo, v.11, n.4, p.299-315, 1997.
- ENGSTRÖM, B. The significance of enterococci in root canal treatment. **Odontol Revy**, Lund, v.15, p.87-106, 1964.

- ESTRELA, C. *et al.* Análise da ação antibacteriana de três cimentos obturadores contendo hidróxido de cálcio. **Rev ABO Nac**, São Paulo, v.3, n.3, p.185-187, jun./jul. 1995
- FABRICIUS, L. *et al.* Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v.90, n.2, p.134-144, Apr. 1982.
- FIDEL, R.A.S. Tempo de endurecimento de alguns cimentos endodônticos que contêm hidróxido de cálcio. **ROBRAC**, Goiânia, v.5, p.15-17, 1995.
- _____. *et al.* Adhesion of calcium hydroxide-containing root canal sealers. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v.5, n.1, p.53-57, 1994.
- FUKUSHIMA, H. *et al.* Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. **J Endod**, Baltimore, v.16, n.11, p.534-538, 1990.
- FUSS, Z. *et al.* Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis in vitro*. **Int Endod J**, Oxford, v.30, n.6, p.397-402, 1997.
- GETTLEMAN, B.H., MESSER, H.H., ELDEEB, M.E. Adhesion of sealer cements to dentin with and without smear layer. **J Endod**, Baltimore, v.17, n.1, p.15-20, Jan. 1991.
- GOMES, B.P. **An investigation into the root canal microflora.** PhD Thesis. Manchester : University of Manchester, 1995.
- _____, DRUCKER, D.B., LILLEY, J.D . Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. **Int Endod J**, Oxford, v.29, n.2, p.69-75, Mar. 1996a.
- _____, _____, _____. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. **Int Endod J**, Oxford, v.27, n.6, p.291-298, 1994a.

GOMES, B.P., DRUCKER, D.B., LILLEY, J.D. Clinical significance of dental root canal microflora. **J Dent**, Oxford, v.29, n.1/2, p.47-55, Jan./Mar. 1996b.

_____, _____, _____. Positive and negative associations between bacterial species in dental root canals. **Microbios**, Cambridge, v.80, n.325, p.231-243, 1994b.

_____, _____, _____. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **Int Endod J**, Oxford, v.29, n.4, p.235-241, July 1996c.

GROSSMAN, L.I. Algunas observaciones sobre obturación de conductos radiculares. **Rev Asoc Odontol Argent**, Buenos Aires, v.50, n.2, p.61-66, 1962.

_____. An improved root canal cement. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.56, n.3, p.381-385, 1958.

_____. **Endodontic practice**. 8th ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1974. p.299-300.

_____. Filling root canals with silver points. **Dent Cosmos**, Philadelphia, v.78, n.7, p.679-687, 1936.

_____. Physical properties of root canal cements. **J Endod**, Baltimore, v.2, n.6, p.166-175, 1976.

HAAPASALO, M., RANTA, H., RANTA, K.T. Facultative Gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.41, n.1, p.19-22, 1983.

_____, RANTA, K. Mixed anaerobic periapical infection with sinus tract. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.3, n.2, p.83-85, 1987.

HAHN, C.L., FALKLER, W.A., MINAK, G.E. Microbiological studies of carious dentin from human teeth with irreversible pulpitis. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.36, n.2, p.147-153, 1991.

- HAPPONEN, R.P. Periapical actinomycosis: a follow-up study of 16 surgically treated cases. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.2, n.3, p.205-209, 1986.
- HASHIOKA, K. *et al.* The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. **J Endod**, Baltimore, v.18, n.11, p.558-561, 1992.
- HEIMDAHL, A. *et al.* Clinical appearance of orofacial infections of odontogenic origin in relation to microbiological findings. **J Clin Microbiol**, Washington, v.22, n.2, p.299-302, Aug. 1985.
- HELING, I., CHANDLER, N.P. The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. **J Endod**, Baltimore, v.22, n.5, p.257-259, 1996.
- HOLLAND, R. *et al.* Análise do selamento marginal obtido com diferentes cimentos à base de hidróxido de cálcio. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v.50, n.1, p.61-64, 1996.
- _____. *et al.* Estudo histopatológico do comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular. Influência da proporção pó-líquido. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v.25, n.3, p.101-110, 1971.
- _____. *et al.* Sealing properties of some root-canal filling materials evaluated with radioisotope. **Aust Dent J**, St Leonards, v.19, n.5, p.322-325, 1974.
- HOSHINO, E. *et al.* Bacterial invasion of nonexposed dental pulp. **Int Endod J**, Oxford, v.25, n.1, p.2-5, 1992.
- HUME, W.R. Effect of eugenol on respiration and division in human pulp, mouse fibroblasts, and liver cells *in vitro*. **J Dent Res**, Washington, v.63, n.11, p.1262-1265, Nov. 1984.

- HUME, W.R. In vitro studies on the local pharmacodynamics, pharmacology and toxicology of eugenol and zinc oxide-eugenol. **Int Endod J**, Oxford, v.21, n.2, p.130-134, 1988.
- INGLE, J.I. Root canal obturation. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.53, n.1, p.47-55, 1956.
- IWU, C. *et al.* The microbiology of periapical granulomas. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.69, n.4, p.502-505, 1990.
- JUKIC, S. *et al.* The mutagenic potential of AH Plus e AH 26 by Salmonella/Microsome assay. **J Endod**, Baltimore, v.26, n.6, p.321-324, 2000.
- 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.
- KETTERING, J.D., TORABINEJAD, M. Cytotoxicity of root-canal sealers: a study using HeLa cells and fibroblasts. **Int Endod J**, Oxford, v.17, n.2, p.60-66, Apr. 1984.
- KHAYAT, A., LEE, S.J., TORABINEJAD, M. Human saliva penetration or coronally unsealed obturated root canals. **J Endod**, Baltimore, v.19, n.9, p.458-461, Sept. 1993.
- KIRYU, T., HOSHINO, E., IWAKU, M. Bacteria invading periapical cementum. **J Endod**, Baltimore, v.20, n.4, p.169-172, 1994.
- KOBAYASHI, T. *et al.* The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis. **Int Endod J**, Oxford, v.23, n.2, p.100-106, Mar. 1990.
- KOO, H. *et al.* In vitro antimicrobial activity of propolis and Arnica montana against oral pathogens. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 45, n.2, p. 1411-1418, 2000.
- KOULAOUZIDOU, E.A. *et al.* Cytotoxicity of three resin-based root canal sealers: an in vitro evaluation. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.14, n.4, p.182-185, 1998.

- KURIHARA, H. *et al.* A microbiological and immunologic study of endodontic-periodontic lesions. **J Endod**, Baltimore, v.21, n.12, p.617-621, 1995.
- LANGELAND, K., BLOCK, R.M., GROSSMAN, L.I. A histopathologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgical specimens. **J Endod**, Baltimore, v.3, n.1, p.8-23, 1977.
- LASALA, A. Análisis de los diferentes materiales para la obturación. **Endodoncia**, Barcelona, v.2, n.1, p.14-22, 1979.
- LEAL, J.M. **Estudos sobre a infiltração e o comportamento dimensional de materiais para obturação de canais radiculares, em função da variação da proporção pó-líquido e do tempo de armazenagem dos corpos de prova.** Araraquara, 1966. 84p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
- _____. Materiais obturadores de canais radiculares. *In*: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia : tratamento de canais radiculares.** 2.ed. São Paulo : Médica Panamericana, 1991. Cap.23, p.348-404.
- _____, HOLLAND, R., ESBERARD, R.M. Sealapex, CRCS, Fill Canal e N-Rickert estudo da biocompatibilidade em tecido subcutâneo do rato. **Odontol Clin**, Araraquara, v.2, n.1, p.7-14, jan./mar. 1988.
- _____, SIMÕES FILHO, A.P., LEONARDO, M.R. Estudo *in vitro* sobre a infiltração e o comportamento dimensional dos cimentos de uso endodôntico: fill canal e trin canal. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v.32, n.194, p.169-173, 1975.
- LEONARDO, M.R. **Contribuição para o estudo da reparação apical e periapical pós tratamento de canais radiculares.** Araraquara, 1973. 87p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.

- LEONARDO, M.R., SIMÕES FILHO, A.P. Preparo biomecânico dos canais radiculares. Meios físicos : irrigação, aspiração e inundação. *In:* _____, LEAL, J.M. **Endodontia** : tratamento de canais radiculares. 2.ed. São Paulo : Médica Panamericana, 1991. Cap.16, p.240-246.
- _____. *et al.* Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. **J Endod**, Baltimore, v. 21, n. 3, p. 137-141, 1995.
- _____. *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, 2000.
- _____. *et al.* Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, Saint Louis, v.88, n.2, p.221-225, Aug. 1999a.
- _____. *et al.* Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.15, n.1, p.28-32, 1999b.
- LEONARDO, R.T. *et al.* Evaluation of cell culture cytotoxicity of five root canal sealers. **J Endod**, Baltimore, v.26, n.6, p.328-330, 2000.
- MARSH, P., MARTIN, M. **Oral microbiology**. 3rd ed. London : Chapman & Hall, 1992.
- MERYON, S.D., JAKEMAN, K.J. The effects *in vitro* of zinc release from dental restorative materials. **Int Endod J**, Oxford, v.18, n.3, p.191-198, July 1985.
- MOLANDER, A., REIT, C., DAHLÉN, G. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**, Oxford, v.31, n.1, p.1-7, 1998.
- MÖLLER, A.J.R. *et al.* Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v.89, n.6, p.475-484, 1981.

- MOLNAR, E.J. Residual eugenol from zinc-oxide-eugenol compounds. **J Dent Res**, Washington, v.46, n.4, p.645-649, July/Aug. 1967.
- MORSE, D.R. **Microbiology and Pharmacology**. In: COHEN, S., BURNS, RC, eds. Pathways of the pulp 4th edn. St. Louis, MO.USA: CV Mosby Co.; 1987.
- NAGAOKA, S. *et al.* Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. **J Endod**, Baltimore, v.21, n.2, p.70-73, Feb. 1995.
- NAIR, P.N.R. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. **J Endod**, Baltimore, v.13, n.1, p.29-39, 1987.
- _____. *et al.* Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J Endod**, Baltimore, v.16, n.12, p.580-588, 1990.
- NISSAN, R. *et al.* Ability of bacterial endotoxin to diffuse through human dentin. **J Endod**, Baltimore, v.21, n.2, p.62-64, Feb. 1995.
- OGATA, M., MIRANDA, V.C., LEAL, J.M. Cimentos de uso endodôntico. Estudo "in vitro" da ação antimicrobiana. **Rev Paul Endodontia**, São Paulo, v.3, p.84-87, 1982.
- OGUNTEBI, B.R. Dentine tubule infection and endodontic therapy implications. **Int Endod J**, Oxford , v.17, n.4, p.218-22, July. 1994.
- ONOSE, H. *et al.* Studies on the antibacterial effects of various medicaments used in root canal therapy. **J Nihon Univ Sch Dent**, Tokyo, v.11, n.4, p.120-128, Dec. 1969.
- ORSTAVIK, D. Antibacterial properties of root-canal sealers, cements and pastes. **Int Endod J**, Oxford, v.14, n.2, p.125-133, May 1981.
- _____. HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.6, n.4, p.142-149, Aug. 1990.

- _____, MJOR, I. Histopathology and X-Ray microanalyses of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. **J Endod**, Baltimore, v.14, n.1, p.13-23, 1988.
- PETERS, L.B., WESSINK, P.R., MOORER, W.R. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. **Int Endod J**, Oxford, v.28, n.2, p.95-99, Mar. 1995.
- POTERA, C. Biofilms invade microbiology. **Science**, Washington, v.273, n.5283, p.1795-1797, Sept. 1996.
- PUMAROLA, J. *et al.* Antimicrobial activity of seven root canal sealers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.74, n.2, p.216-220, Aug. 1992.
- PUPO, J. **Atividade antimicrobiana de cimentos obturadores frente às amostras de microrganismos freqüentes em canais radiculares.** Piracicaba, 1976. 88p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
- _____. *et al.* Antimicrobial effects of endodôntico filling cements on microorganisms from root canal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.55, n.6, p.622-627, 1983.
- _____. *et al.* Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de cimentos obturadores de canal à base de eugenolatos. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v.36, n.3, p.342-347, maio/jun. 1982..
- RANTA, K., HAAPASALO, M., RANTA, H. Monoinfection of root canal with pseudomonas aeruginosa. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.4, n.6, p.269-272, Dec. 1988.
- RICKERT, U.G. My present conceptions for the control of dental foci of infection. **Dent Cosmos**, Philadelphia, v.69, n.5, p.451-462, 1927.
- SABISTON JR., C.B., GOLD, W.A. Anaerobic bacteria in oral infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.38, n.2, p.187-192, Aug. 1974.

- SAKELLARIOU, P.L. Periapical acinomycosis: report of a cases and review of the literature. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.12, n.2, p.151-154, June 1996.
- SAVIOLI, R.N. *et al.* Influência de cada componente do pó do cimento de Grossman sobre a relação pó/líquido e o tempo de espatulação. **ROBRAC**, Goiânia, v.5, n.14, p.4-6, 1995.
- SEN, B.H., PISKIN, B., DEMIRCI, T. Observation of bacteria and fungi in infected root canal and dentinal tubules by SEM. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.11, n.1, p.6-9, 1995.
- SHALHAV, M., FUSS, Z., WEISS, E. In vitro antibacterial activity of a glass ionomer endodontic sealer. **J Endod**, Baltimore, v.23, n.10, p.616-619, 1997.
- SHOVELTON, D.S. The presence and distribution of microorganisms within non-vital teeth. **Br Dent J**, London, v.117, n.3, p.101-107, 1964.
- SILVA, L.A.B. **Cimentos obturadores de canal radicular à base de hidróxido de cálcio – Avaliação histopatológica do reparo apical e periapical em dentes de cães, da resposta inflamatória em tecido subcutâneo e da migração celular em cavidade peritoneal de camundongos. Análise do pH, concentração de cálcio total e condutividade.** Ribeirão Preto, 1995. 191p. Tese (Livre docência) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- SILVA, R.G. *et al.* Estudo da adesividade de alguns cimentos obturadores dos canais radiculares. **ROBRAC**, Goiânia, v.6, n.21, p.14-18, 1997.
- SIMÕES FILHO, A.P. **Contribuição para o estudo de materiais obturadores de canais radiculares : verificação da solubilidade e desintegração.** Araraquara, 1969. 108p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.

SIQUEIRA JR., J.F., GARCIA FILHO, P.F. Avaliação *in vitro* das propriedades seladoras de três cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v.51, n.1, p.37-40, 1994.

_____, GONÇALVES, B. Antibacterial activities of root canal sealer against selected anaerobic bacteria. **J Endod**, Baltimore, v.22, n.2, p.79-80, 1996.

SIQUEIRA JR., J.F., LOPES, H.P., UZEDA, M. Avaliação da capacidade de seladores temporários de prevenir a infiltração bacteriana. **ROBRAC**, Goiânia, v.6, n.21, p.24-27, 1997.

_____, UZEDA, M., FONSECA, M.E.F. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J Endod**, Baltimore, v.22, n.6, p.308-310, 1996.

_____. *et al.* Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. **J Endod**, Baltimore, v.26, n.5, p.274-277, 2000.

SIREN, E.K. *et al.* Microbiological finding and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int Endod J**, Oxford, v.30, n.2, p.91-95, Mar. 1997.

SJÖGREN, U. *et al.* Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**, Oxford, v.30, n.5, p.297-306, 1997.

_____. *et al.* The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int Endod J**, Oxford, v.24, n.3, p.119-125, May 1991.

SOUSA NETO, M.D. *et al.* Influence of different kinds of resins and hydrogenated resins on the setting time of Grossman cements. **Rev Odontol Univ Sao Paulo**, São Paulo, v.13, n.1, p.83-87, 1999.

- SPANGBERG, L., ENGSTRÖM, B., LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials.3.Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics *in vitro*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.36, n.6, p.856-871, 1973.
- STEVENS, R.H., GROSSMAN, L.I. Antimicrobial effect of root canal cements on an obligate anaerobic organism. **J Endod**, Baltimore, v.7, n.6, p.266-271, 1981.
- SUNDQVIST, G. Association between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.7, n.5, p.257-262, Oct. 1992a.
- _____. **Bacteriologic studies of necrotic dental pulps**. Sweden : University of Umea, 1976. [Odontological Dissertation, 7]
- _____. Ecology of the root canal flora. **J Endod**, Baltimore, v.18, n.9, p.427-430, 1992b.
- _____. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.78, n.4, p.522-530, Oct. 1994.
- _____. FIGDOR, D., SJÖGREN, U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, Saint Louis, v.85, n.1, p.86-93, 1998.
- _____. *et al.* Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. **J Endod**, Baltimore, v.15, n.1, p.13-19, 1989.
- TANOMARU FILHO, M. **Comportamento dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães portadores de reação periapical crônica em função da técnica de neutralização do conteúdo séptico/tóxico e do cimento obturador empregado no tratamento endodôntico. Avaliação radiográfica e histopatológica**. Araraquara, 1996. 221p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.

- TEN CATE, A.R. **Histologia bucal**. 2.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1988. 395p.
- TRONSTAD, L., BARNETT, F., CERVONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.6, n.2, p.73-77, 1990a.
- TRONSTAD, L., KRESHTOOL, D., BARNETT, F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.6, n.3, p.129-136, 1990b.
- _____. *et al.* Extraradicular endodontic infections. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.3, n.2, p.86-90, 1987.
- TROPE, M., DELANO, O., ORSTAVIK, D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. **J Endod**, Baltimore, v.25, n.5, p.345-350, 1999.
- _____. ROSEMBERG, E., TRONSTALD, L. Darkfield microscopic spirochete count in the differentiation of endodontic and periodontial abscesses. **J Endod**, Baltimore, v.18, n.2, p.82-86, Feb. 1992.
- TZIAFAS, D. Experimental bacterial anachoresis in dog dental pulps capped with calcium hydroxide. **J Endod**, Baltimore, v.14, n.2, p.591-595, 1989.
- UPDEGRAFF, D.M., CHANG, R.W.H., JOOS, R.W. Antibacterial activity of dental restorative materials. **J Dent Res**, Washington, v.50, n.2, p.382-392, Mar./Apr. 1971.
- WEINE, F.S. **Endodontic therapy**. 5th ed. Saint Louis : Mosby, 1996.
- WEISS, E.I., SHALHAV, M., FUSS, Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v.12, n.4, p.179-184, Aug. 1996.

WITTGOW, W., SABISTON, C.B. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. **J Endod**, Baltimore, v.1, n.5, p.168-171, 1975.

YESILSOY, C. *et al.* A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.65, n.4, p.459-467, 1988.

ANEXO 1 - ESPECIFICAÇÕES DOS CIMENTOS OBTURADORES UTILIZADOS NO EXPERIMENTO

NOME	FABRICANTE	COMPOSIÇÃO
ENDOFILL	Herpo Produtos Dentários Ltda., Brasil	PÓ
		Protóxido de zinco 40.5g
		Resina hidrogenada 25.0
		Subcarbonato de bismuto 16.0
		Sulfato de bário 15.0
		Borato de sódio anidro 0.5
		LÍQUIDO
		Eugenol 5 ml
		Óleo de amendoas doces 1 ml
ENDOMÉTHASONE	Specialites Septodont-França	PÓ
		Oxido de zinco 417.0 mg
		Dexametasona 0,1 mg
		Acetato de hidrocortisona 10.0 mg
		Di-iodotimol 250.0 mg
		Paraformaldeido 22.0 mg
		Óxido de chumbo 50.0 mg
		Sulfato de bário q.s.p. 1.0 g
		Estearato de magnésio q.s.p. 1.0 g
		Subnitrato de bismuto q.s.p. 1.0 g
SEALER 26	Dentsply, Indústria e Comércio Ltda., Brasil	LÍQUIDO
		Eugenol
		PÓ
		Hidróxido de cálcio
		Óxido de bismuto,
		Hexametileno Tetramina
		Dióxido de titânio.
		RESINA
		Éter de bisfenol A diglicidil
AH-PLUS	Dentsply – DeTrey GmbH D-78467 Konstanz – Suíça	PÓ
		Hidróxido de cálcio
		Óxido de bismuto,
		Hexametileno Tetramina
		Dióxido de titânio.
		RESINA
		Éter de bisfenol A diglicidil
		PASTA A
		Resina epóxica
		Tungstato de cálcio
AH-PLUS	Dentsply – DeTrey GmbH D-78467 Konstanz – Suíça	Óxido de zircônio
		Aerosil
		Óxido de ferro 4 ml
		PASTA B
		Amina adamantana
		N,N'-Dibencil-5-oxanomano-diamina-1,9
		TCD-Diamina
		Tungstato de cálcio
		Óxido de zircônio
		Aerosil
		Óleo de silicone 4 ml

ANEXO 2 - MEIOS DE CULTURA

2.1. Brain Heart Infusion Broth (BHI) - Caldo Infusão Cérebro- Coração

(Oxoid, Unipath Ltd, Basingstoke, UK - CM 225)

2.1.1 Descrição:

Meio de infusão isotônico rico com triptose (uma mistura de carne e peptonas do leite) promovendo uma ampla gama de substratos. Uma concentração baixa de glicose é utilizada para estimular crescimento precoce. O meio é ligeiramente tamponado para impedir a morte rápida de algumas espécies devido a produção de ácido. O meio é adequado para uso como meio de cultura para sangue ou como um caldo enriquecido para organismos fastidiosos.

2.1.2 Método para reconstituição:

Dispensar 18,5 g do pó em 500 mL de água deionizada. A suspensão deve ser mantida em repouso por 10 mm e depois dissolvida sob aquecimento brando antes de ser distribuída em tubos ou frascos. E esterilizada por autoclavagem a 121°C por 15 mm. O superaquecimento irá causar caramelização e escurecimento do meio.

2.1.3 Aparência: amarela clara (sem adição do sangue)

2.1.4 Armazenagem do meio preparado:

Frascos com tampa: até 3 meses a 15-20°C no escuro.

2.1.5. Inoculação (como meio de cultura para sangue):

Usar um volume mínimo de 50 mL de meio e adicionar o sangue numa diluição de 1:10 a 1:20. Usar em conjunto com um meio de cultura anaeróbico (ex. Fastidious Anaerobe Medium-CI 70-1).

2.1.6 Incubação:

37°C aerobicamente de 7 a 15 dias

2.1.7 Interpretação de crescimento microbiano

Observar diariamente as subculturas (1, 2, 3, 7 e 15 dias) ou imediatamente após haver sinal de crescimento microbiano.

2.1.8 Fórmula

g/L

Infusão de sólidos de cérebro-coração
Proteose peptona
Glicose
Cloreto de sódio
Fosfato di-sódio

17,5
10,0
2,0
5,0
2,5

pH: 7,4 ± 0,2

2.2. Brain Heart Infusion Agar (BHIA) - Agar Infusão Cérebro-Coração

(Oxoid, Unipath Ltd, Basingstoke, UK -CM 375)

2.2.1 Descrição:

Ágar base para todos os usos.

Este meio foi desenvolvido inicialmente para o isolamento de patógenos orais. Com o acréscimo de 5% de sangue desfibrinado, o meio permitirá o crescimento de uma variedade ampla de organismos fastidiosos. O fosfato tamponado permite neutralizar os ácidos produzidos pela utilização da glicose e então manter a viabilidade. Este meio não é recomendado para a determinação de reações hemolíticas por conter glicose.

2.2.2 Método para reconstituição

Dispensar 23,5 g do pó em 500 mL de água deionizada. A suspensão deve ser mantida em repouso por 10 min e depois agitada. É esterilizada por autoclavagem a 121°C por 15 min e resfriada a 47°C antes de ser distribuída nas placas de Petri.

2.2.3 Aparência:

Amarela clara (sem adição de sangue).

2.2.4 Armazenagem do meio preparado:

Placas: até 7 dias a 4°C no escuro

Frascos com tampa: até 3 meses a 15-20°C no escuro.

2.2.5 Inoculação:

Em superfície, plaqueando para obter colônias puras.

2.2.6 Incubação:

Tempo e temperatura favorável aos microrganismos.

2.2.7 Características de crescimento:

Colônias brancas/transparentes em meio sem sangue.

2.2.7.1 Características de crescimento (com sangue desfibrinado)

Organismos	Tamanho da Colônia (mm)	Forma & Superfície	Cor
<i>S. aureus</i>	1,0-1,5	CV.. B.	branca/dourada
" <i>S. milleri</i> ""	PG-0,1	CV.. B.	transparentel branca
<i>E. faecalis</i>	1,0-1,25	CV.. B.	cinza / esverdeada
<i>S. pneumoniae</i>	0,5-1,0	A. .B.	cinza / esverdeada

A	= achatada
B	= brilhante
CV	= convexa
I	= inteira
PG	= pontiaguda

2.2.8	Fórmula	g/L
	Infusão de sólidos de cérebro-coração	17,5
	Proteose peptona	10,0
	Glicose	2,0
	Cloreto de sódio	5,0
	Fosfato disódico	2,5
	Ágar no. 2	10,0

pH: $7,4 \pm 0,2$

2.3. Mueller-Hinton Agar (MHA)
(Oxoid, Unipath Ltd, Basingstoke, UK - CM 337)

2.3.1 Descrição:

Meio para testes de sensibilidade antimicrobiana onde pode se utilizar todas as técnicas estandardizadas reconhecidas internacionalmente como por exemplo o método de difusão usando discos ou poços. Este meio, usado na técnica de Bauer-Kirby, foi adotado pelo "National Committee for Clinical Laboratory Standards" (NCCLS) nos EUA como um meio ideal para teste de suscetibilidade. O meio tem uma pequena quantidade de timina e timidina, permitindo seu uso nos testes de trimetopim e sulfonamida para assegurar os tamanhos corretos dos halos de inibição obtidos pelos antibióticos aminoglicosídeos e tetraciclina. Foi originalmente formulado como um meio para isolamento de espécies patogênicas de *Neisseria*.

2.3.2 Método para reconstituição:

Dispensar 19,0 g do pó em 500 mL de água deionizada. A suspensão deve ser mantida em repouso por 10 mm e depois agitada. E esterilizada por autoclavagem a 121°C por 15 mm e resfriada a 47°C. Misturar bem e distribuir nas placas de Petri.

2.3.3 Aparência: Amarela clara (sem sangue)

2.3.4 Armazenagem do meio preparado

Placas: até 7 dias a 4°C no escuro

2.3.5 Inoculação

Em superfície, de acordo com o NCCLS.

2.3.6 Incubação

37°C aerobicamente por 16-18 h

2.3.7.	Fórmula	g/L
	Carne de vaca, de infusão desidratada	300,0
	Hidrolisado de caseína	17,5
	Amido	1,5
	Agar no. 1	17,0
	lons cálcio	50-100 mg/L
	lons magnésio	20-35 mg/L

pH: 7,4 ± 0,2

ANEXO 3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS TESTADOS

3.1. MÉTODO DIFUSÃO EM ÁGAR (n = média em mm)

TABELA 3.1.1. Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endo-Fill em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos.

Microrganismos	ENDO-FILL				
	Tempo de manipulação				
	Imediata	24 h	48 h	7 dias	
<i>C. albicans</i>	F 1	2,5	2,3	2,0	1,5
	F 2	2,6	2,5	1,5	1,0
	F 3	2,7	2,2	1,3	1,2
	n =	2,6	2,3	1,6	1,2
<i>Ac. naeslundii</i>	F 1	2,5	2,0	1,5	1,0
	F 2	3,5	2,5	2,0	2,0
	F 3	3,5	2,5	1,0	0,5
	n =	3,2	2,3	1,5	1,2
<i>E. faecalis</i>	F 1	0*	0*	0*	0*
	F 2	0*	0*	0*	0*
	F 3	0*	0*	0*	0*
	n =	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i>	F 1	1,0	0*	0*	0*
	F 2	1,0	0*	0*	0*
	F 3	1,0	0*	0*	0*
	n =	1,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. sanguis</i>	F 1	2,0	1,5	1,0	0*
	F 2	2,0	1,5	1,0	0*
	F 3	2,0	1,5	1,0	0*
	n =	2,0	1,5	1,0	0,0

0* = inibição por contato direto

TABELA 3.1.2. Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endométhasone em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos.

Microrganismos	ENDOMÉTHASONE				
	Tempo de manipulação				
		Imediata	24 h	48 h	7 dias
<i>C. albicans</i>	M 1	3,5	0,5	0*	0*
	M 2	3,0	1,0	0*	0*
	M 3	3,5	0,5	0*	0*
	n =	3,3	0,7	0,0	0,0
<i>A. naeslundii</i>	M 1	4,0	0*	0*	0*
	M 2	4,5	0*	0*	0*
	M 3	2,0	0*	0*	0*
	n =	3,5	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i>	M 1	3,4	0*	0*	0*
	M 2	3,3	0*	0*	0*
	M 3	3,2	0*	0*	0*
	n =	3,3	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i>	M 1	5,5	1,0	0*	0*
	M 2	5,0	1,0	0*	0*
	M 3	5,5	0*	0*	0*
	n =	5,3	0,7	0,0	0,0
<i>S. sanguis</i>	M 1	3,0	0*	0*	0*
	M 2	3,0	0*	0*	0*
	M 3	3,0	0*	0*	0*
	n =	3,0	0,0	0,0	0,0

0* = inibição por contato direto

TABELA 3.1.3. Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Sealer 26 em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos.

Microrganismos	SEALER 26				
	Tempo de manipulação				
		Imediata	24 h	48 h	7 dias
<i>C. albicans</i>	S 1	0*	0*	0*	0*
	S 2	0*	0*	0*	0*
	S 3	0*	0*	0*	0*
	n =	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>A. naeslundii</i>	S 1	0*	0*	0*	0*
	S 2	0*	0*	0*	0*
	S 3	1,0	0*	0*	0*
	n =	0,3	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i>	S 1	0*	0*	0*	0*
	S 2	0*	0*	0*	0*
	S 3	1,0	0*	0*	0*
	n =	0,3	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i>	S 1	1,0	0*	0*	0*
	S 2	1,0	0*	0*	0*
	S 3	1,0	0*	0*	0*
	n =	1,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. sanguis</i>	S 1	0*	0*	0*	0*
	S 2	0*	0*	0*	0*
	S 3	0*	0*	0*	0*
	n =	0,0	0,0	0,0	0,0

0* = inibição por contato direto

TABELA 3.1.4. Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico AH -Plus em vários tempos após manipulação x microrganismos aeróbios e facultativos.

Microrganismos	AH-PLUS				
	Tempo de manipulação				
		Imediata	24 h	h	7 dias
<i>C. albicans</i>	A 1	1,0	1,0	1,0	0*
	A 2	1,0	1,0	0,5	0*
	A 3	1,0	1,0	0*	0*
	n =	1,0	1,0	0,5	0,0
<i>A. naeslundii</i>	A 1	0*	0*	0*	0*
	A 2	0*	0*	0*	0*
	A 3	0*	0*	0*	0*
	n =	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>E. faecalis</i>	A 1	0*	0*	0*	0*
	A 2	0*	0*	0*	0*
	A 3	0*	0*	0*	0*
	n =	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. aureus</i>	A 1	1,0	0*	0*	0*
	A 2	1,0	0*	0*	0*
	A 3	2,0	0*	0*	0*
	n =	1,3	0,0	0,0	0,0
<i>S. sanguis</i>	A 1	2,0	0*	0*	0*
	A 2	2,0	0*	0*	0*
	A 3	1,5	0*	0*	0*
	n =	1,8	0,0	0,0	0,0

0* = inibição por contato direto

3.2 MÉTODO DE CONTATO DIRETO

TABELA 3.2.1.1.1. Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico AH -Plus contra *C. albicans* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	AH-PLUS X <i>Candida albicans</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	71,7	85,3	87,3	81,6
2.	68,8	84,3	86,3	80,6
3.	67,6	81,2	82,3	78,1
4.	65,2	77,1	75,8	73,0
5.	63,3	69,4	62,3	64,5
6.	56,7	63,6	53,5	57,7
7.	54,1	59,2	47,3	53,4
8.	51,2	54,9	41,5	47,9
9.	48,9	50,9	36,4	43,8
10.	47,8	47,0	32,8	38,2
11.	46,5	43,4	30,3	35,4
12.	45,0	37,3	29,3	32,4
13.	43,8	34,9	27,9	29,5
14.	41,3	32,9	26,6	27,6
15.	39,6	30,4	25,6	26,0
16.	38,3	28,6	24,2	24,1
17.	37,7	26,9	22,6	22,2
18.	35,9	25,8	21,2	20,9
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.1.2 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico AH -Plus contra *A. naeslundii* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	AH-PLUS X <i>Actinomyces naeslundii</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	52,0	74,9	83,7	83,9
2.	45,3	65,1	75,6	80,6
3.	42,6	48,1	72,1	71,2
4.	35,0	45,1	60,6	62,6
5.	33,0	35,5	54,3	52,5
6.	31,8	29,3	44,6	52,5
7.	30,8	24,6	37,3	44,1
8.	30,2	23,1	31,6	35,7
9.	28,8	23,0	31,6	30,4
10.	27,8	22,8	28,3	27,7
11.	25,4	22,8	24,6	25,9
12.	24,5	22,8	23,5	24,3
13.	23,8	22,2	22,7	22,9
14.	23,3	22,1	22,7	21,3
15.	23,0	22,1	22,5	20,6
16.	22,8	21,9	22,4	20,1
17.	22,7	21,9	22,3	19,8
18.	22,4	21,9	22,1	19,4
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.1.3 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico AH -Plus contra *E. faecalis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	AH- PLUS X <i>Enterococcus faecalis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	77,9	82,5	83,3	83,8
2.	68,5	73,7	74,8	75,8
3.	53,5	56,2	56,7	59,7
4.	37,8	37,4	40,9	41,4
5.	26,5	25,4	27,3	28,7
6.	16,2	15,6	16,4	17,1
7.	13,3	13,5	14,1	14,0
8.	12,8	13,3	13,0	13,4
9.	12,7	13,2	13,0	13,4
10.	12,7	13,0	13,0	13,4
11.	12,7	12,8	13,0	13,4
12.	12,5	12,8	13,0	13,4
13.	12,5	12,7	13,0	13,4
14.	12,5	12,7	13,0	13,3
15.	12,5	12,7	12,9	13,3
16.	12,5	12,7	12,9	13,3
17.	12,5	12,7	12,9	13,3
18.	12,5	12,7	12,9	13,3
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.1.4 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico AH -Plus contra *S. aureus* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	AH-PLUS X <i>Staphylococcus aureus</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	88,8	86,7	87,9	85,9
2	87,9	85,9	87,4	85,0
3	87,3	83,4	84,4	83,5
4	87,0	79,6	78,4	78,4
5	86,7	77,1	72,9	71,6
6	86,5	74,9	66,8	63,9
7	86,3	73,3	60,3	56,8
8	86,0	70,7	53,9	48,2
9	85,2	68,2	44,4	37,6
10	85,0	66,3	33,1	29,1
11	84,9	62,4	21,2	20,8
12	84,8	59,2	19,9	17,6
13	84,7	54,8	14,7	15,3
14	84,6	51,0	14,2	14,4
15	84,5	45,5	14,0	14,0
16	84,3	40,8	13,2	13,9
17	84,3	40,4	13,2	13,7
18	84,3	34,7	13,2	13,5
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.1.5 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico AH -Plus contra *S. sanguis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	AH-PLUS X <i>Streptococcus sanguis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	52,3	77,2	76,0	78,5
2	51,4	75,4	74,3	76,9
3	50,9	70,8	68,7	76,0
4	50,6	59,4	60,4	73,1
5	50,4	53,0	54,5	67,3
6	50,2	51,0	51,8	40,3
7	49,9	49,6	51,4	39,2
8	49,7	48,4	49,2	38,6
9	49,6	46,9	48,0	37,0
10	49,4	44,7	47,2	36,5
11	49,3	42,5	46,0	35,4
12	49,1	40,5	45,9	34,4
13	48,9	35,6	42,8	32,8
14	48,7	33,6	40,8	30,6
15	48,5	30,5	38,0	27,5
16	48,4	27,9	33,9	24,6
17	48,2	23,7	26,8	22,2
18	48,0	20,2	19,1	18,6
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.2.1 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Sealer 26 contra *C. albicans* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	SEALER 26 X <i>Candida albicans</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	64,7	84,8	80,5	77,4
2.	43,9	81,0	71,8	72,4
3.	29,4	75,9	74,3	63,8
4.	19,2	68,4	67,9	51,9
5.	17,5	56,6	53,9	44,6
6.	16,6	51,1	47,8	39,6
7.	15,7	45,7	42,3	35,1
8.	14,9	41,5	38,8	31,7
9.	14,2	37,0	31,4	28,7
10.	13,6	32,8	30,5	26,9
11.	13,3	30,3	27,9	25,4
12.	12,6	28,1	27,0	24,3
13.	12,5	26,5	25,7	22,7
14.	12,3	25,3	24,4	21,7
15.	12,2	23,3	22,4	20,3
16.	12,2	21,8	21,4	19,9
17.	12,1	20,9	20,8	20,3
18.	12,1	19,7	19,0	18,9
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.2.2 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Sealer 26 contra *A. naeslundii* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	SEALER 26 X <i>Actinomyces naeslundii</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	35,4	81,1	78,3	81,8
2.	17,5	67,8	73,3	79,7
3.	12,2	56,7	65,4	69,2
4.	9,9	45,1	55,2	57,1
5.	8,6	34,1	43,9	43,3
6.	7,6	25,7	36,0	32,0
7.	7,0	21,4	29,2	25,3
8.	6,6	20,3	26,1	21,6
9.	5,8	20,0	24,2	20,8
10.	4,7	20,0	22,5	20,5
11.	4,4	20,0	22,5	20,1
12.	4,1	19,9	22,2	20,0
13.	4,0	19,5	21,0	19,8
14.	3,7	19,3	20,3	19,5
15.	3,2	19,3	20,3	19,5
16.	3,2	19,3	20,3	19,4
17.	3,1	19,1	19,8	19,3
18.	3,1	19,1	19,8	19,1
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.2.3 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Sealer 26 contra *E. faecalis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	SEALER 26 X <i>Enterococcus faecalis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORA	7 DIAS
1	64,5	83,2	82,4	79,6
2	37,1	74,1	73,0	68,5
3	24,5	62,0	56,7	49,2
4	15,2	43,3	37,4	31,0
5	10,1	30,6	24,6	20,2
6	7,1	19,9	16,0	14,6
7	5,9	14,0	13,8	12,7
8	5,6	13,0	13,0	12,6
9	5,4	12,5	12,7	12,5
10	5,3	12,5	12,7	12,5
11	5,2	12,4	12,6	12,4
12	5,0	12,4	12,5	12,4
13	4,9	12,3	12,5	12,3
14	4,7	12,2	12,4	12,3
15	4,6	12,2	12,4	12,2
16	4,5	12,1	12,3	12,1
17	4,5	12,0	12,3	12,0
18	4,5	12,0	12,3	12,0
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.2.4 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Sealer 26 contra *S. aureus* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	SEALER 26 X <i>Staphylococcus aureus</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	62,1	36,0	37,5	36,9
2	42,1	85,4	84,7	84,1
3	25,4	82,2	79,8	79,5
4	12,5	77,6	70,5	68,6
5	8,3	72,5	61,6	58,9
6	6,4	71,0	55,6	50,4
7	5,2	63,2	45,6	39,0
8	4,6	59,0	35,8	30,4
9	4,0	55,1	26,9	20,3
10	3,9	52,5	19,7	17,7
11	3,6	49,8	15,2	14,3
12	3,6	47,5	12,9	13,4
13	3,6	44,0	12,2	12,4
14	3,5	40,8	12,1	12,4
15	3,4	36,7	12,0	12,4
16	3,3	35,1	12,0	12,3
17	3,1	33,9	11,9	12,3
18	3,1	33,2	11,9	12,3
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.2.5 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Sealer 26 contra *S. sanguis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	SEALER 26 X <i>Streptococcus sanguis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	25,7	71,2	71,1	78,5
2.	2,8	70,9	70,8	75,6
3.	2,4	66,0	67,2	72,3
4.	1,8	61,4	61,2	68,2
5.	1,0	58,2	59,0	62,7
6.	1,0	54,7	55,2	58,0
7.	1,0	51,9	51,4	54,5
8.	1,0	49,5	49,6	48,3
9.	0,9	46,6	46,6	46,2
10.	0,9	41,7	44,8	44,3
11.	0,8	35,7	33,8	39,1
12.	0,8	32,0	32,5	37,8
13.	0,8	30,5	30,5	36,4
14.	0,8	29,2	30,3	34,7
15.	0,8	27,9	28,9	33,3
16.	0,8	25,5	27,4	32,2
17.	0,8	23,6	26,2	30,9
18.	0,8	23,3	24,8	29,4
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.3.1 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endométhasone contra *C.albicans* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDOMETHASONE X <i>Candida albicans</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	78,9	85,1	84,1	84,4
2	78,0	80,5	81,2	81,8
3	77,3	78,9	77,1	77,0
4	76,2	76,1	76,0	70,7
5	74,5	70,2	55,0	53,2
6	73,2	69,2	50,3	48,5
7	72,0	68,7	42,5	43,9
8	71,3	68,3	38,3	38,3
9	70,9	67,5	34,7	34,6
10	70,5	67,1	31,0	31,8
11	70,2	66,2	29,1	30,0
12	69,2	65,0	28,6	27,8
13	68,7	64,3	26,7	26,5
14	68,3	63,7	24,9	25,0
15	67,5	63,0	24,0	23,8
16	67,1	61,3	22,6	22,8
17	66,2	60,9	21,5	21,4
18	65,0	60,3	20,8	20,4
PLACA			+	+

TABELA 3.2.1.3.2 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endométhasone contra *A. naeslundii* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDOMETHASONE X <i>Actinomyces naeslundii</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	76,8	74,9	76,5	82,6
2.	76,0	64,7	59,1	67,1
3.	75,4	48,2	47,5	52,7
4.	75,0	40,2	37,5	42,0
5.	74,5	29,7	26,5	32,1
6.	74,1	24,3	22,6	27,4
7.	73,3	22,1	22,1	25,4
8.	72,3	21,8	21,8	23,7
9.	70,2	21,0	21,3	22,6
10.	67,9	20,4	20,9	21,6
11.	66,7	20,0	20,6	21,1
12.	65,6	19,1	19,8	21,0
13.	64,8	18,8	19,4	20,4
14.	64,1	18,4	19,2	20,0
15.	63,5	18,2	18,8	19,8
16.	62,8	17,9	18,4	19,5
17.	62,5	17,7	18,2	19,3
18.	62,2	17,2	18,0	19,1
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.3.3 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endométhasone contra *E. faecalis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDOMÉTHASONE X <i>Enterococcus faecalis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	83,0	81,1	85,3	75,1
2	82,3	67,8	78,6	64,0
3	82,0	51,5	66,5	42,4
4	81,0	34,9	52,6	26,1
5	80,7	23,4	38,6	18,3
6	80,0	16,3	20,9	15,7
7	79,8	14,0	15,8	13,8
8	78,6	13,4	14,9	13,6
9	77,5	13,2	14,2	13,5
10	74,0	13,0	13,8	13,5
11	71,0	12,9	13,4	13,3
12	70,6	12,8	13,2	13,3
13	70,2	12,7	13,0	13,0
14	69,7	12,6	12,9	12,8
15	69,4	12,5	12,8	12,6
16	69,1	12,4	12,8	12,5
17	68,7	12,2	12,5	12,5
18	68,3	12,2	12,4	12,5
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.3.4 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endométhasone contra *S. aureus* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDOMETHASONE X <i>Staphylococcus aureus</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	87,0	88,8	85,2	85,6
2	86,6	87,1	84,4	85,3
3	86,5	84,4	81,7	83,7
4	86,3	78,1	75,4	78,4
5	86,2	68,5	67,2	68,8
6	86,0	59,8	57,6	61,4
7	85,9	52,0	49,9	51,7
8	85,9	45,6	41,5	42,9
9	85,8	33,3	31,2	33,3
10	85,8	27,2	21,5	25,3
11	85,7	15,1	14,8	17,7
12	85,6	13,6	13,6	13,7
13	85,5	13,4	13,0	13,3
14	85,3	13,0	12,8	12,9
15	85,1	13,0	12,5	12,7
16	85,0	12,5	12,4	12,3
17	84,8	12,4	12,3	12,0
18	84,7	12,3	12,3	12,0
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.3.5 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endométhasone contra *S. sanguis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDOMETHASONE X <i>Streptococcus sanguis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	81,4	81,6	79,3	80,5
2	81,1	82,8	78,1	74,1
3	80,3	81,2	75,4	70,7
4	79,4	77,4	73,7	66,3
5	79,0	74,3	69,4	55,0
6	78,5	73,0	67,9	52,1
7	77,3	70,9	65,2	50,5
8	72,1	70,0	62,0	49,0
9	68,4	68,7	60,8	47,3
10	68,0	68,3	58,6	46,2
11	67,8	67,3	56,6	39,8
12	67,5	66,2	55,1	36,9
13	67,0	61,0	53,1	34,4
14	66,7	59,0	50,8	32,1
15	66,3	54,4	47,2	30,3
16	66,0	53,4	43,0	29,0
17	65,7	50,1	40,0	28,7
18	65,1	49,0	38,5	27,7
PLACA		+	+	+

TABELA 3.2.1.4.1 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endo-Fill contra *C.albicans* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDO-FILL X <i>Candida albicans</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	79,4	78,9	80,3	77,4
2	79,0	75,7	77,9	73,8
3	78,8	70,0	72,0	66,6
4	78,2	67,0	63,0	52,7
5	76,8	60,0	48,7	43,9
6	75,7	49,5	38,4	38,0
7	73,7	45,5	36,3	35,4
8	72,0	42,4	33,0	32,1
9	71,8	39,4	31,6	30,1
10	71,6	36,7	30,0	28,6
11	71,5	34,4	28,0	27,4
12	71,4	32,3	26,7	25,9
13	71,2	30,3	25,5	24,3
14	71,0	28,0	24,4	23,3
15	70,7	26,7	23,3	22,1
16	70,5	25,7	22,2	19,5
17	70,3	24,1	21,7	19,0
18	70,2	22,9	21,2	18,8
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.4.2 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endo-Fill contra *A. naeslundii* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDO-FILL X <i>Actinomyces naeslundii</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1	72,5	80,2	81,5	82,9
2	71,8	69,5	72,8	78,9
3	71,6	55,0	54,7	50,4
4	71,4	42,8	43,7	38,0
5	71,2	39,5	41,6	35,6
6	71,0	36,9	38,7	31,0
7	70,4	33,9	32,7	27,7
8	69,9	31,5	29,0	27,0
9	69,7	28,4	27,2	26,5
10	69,4	23,6	25,5	25,6
11	69,2	23,1	25,1	24,7
12	68,6	22,7	24,8	24,4
13	68,1	22,4	24,0	23,9
14	67,2	21,6	23,1	23,7
15	66,6	21,2	22,6	23,6
16	65,9	20,7	22,2	22,9
17	65,7	20,1	21,6	22,3
18	64,7	19,4	21,0	21,4
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.4.3 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endo-Fill contra *E. faecalis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDO-FILL X <i>Enterococcus faecalis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	74,6	84,6	79,2	78,9
2.	63,3	75,9	67,7	67,5
3.	47,1	62,7	49,8	49,9
4.	33,0	47,4	33,4	33,2
5.	22,9	34,8	21,3	21,9
6.	15,7	21,5	16,8	18,3
7.	14,9	20,3	16,3	18,1
8.	14,7	20,0	16,1	17,6
9.	14,7	19,6	15,9	17,2
10.	14,6	19,2	15,3	16,7
11.	14,5	18,8	14,8	16,5
12.	14,4	18,5	14,4	16,3
13.	14,4	18,0	14,1	16,1
14.	14,2	17,9	14,0	15,8
15.	14,1	17,2	13,5	15,5
16.	13,8	17,0	13,3	15,1
17.	13,8	16,4	13,1	14,6
18.	13,7	16,3	12,9	14,5
PLACA	+	+	+	+

TABELA 3.2.1.4.4 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endo-Fill contra *S. aureus* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDO-FILL X <i>Staphylococcus aureus</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	88,4	86,7	88,9	89,5
2.	87,5	86,0	87,1	88,3
3.	87,4	85,2	84,5	86,6
4.	87,2	84,1	77,8	82,2
5.	87,0	83,3	69,4	75,7
6.	86,8	82,4	58,6	67,8
7.	85,6	81,2	53,1	56,8
8.	85,4	80,1	47,6	47,6
9.	85,2	77,3	42,2	40,4
10.	84,9	74,5	39,2	34,2
11.	84,7	73,4	37,3	31,3
12.	84,3	70,8	36,8	29,4
13.	83,6	68,1	36,5	27,3
14.	83,1	66,3	36,2	25,2
15.	82,7	64,0	35,8	25,0
16.	82,5	62,0	35,0	24,9
17.	82,3	60,9	34,3	24,8
18.	82,0	60,2	33,8	24,7
PLACA	-	+	+	+

TABELA 3.2.1.4.5 Atividade antimicrobiana do cimento endodôntico Endo-Fill contra *S. sanguis* nos vários tempos após manipulação

TEMPO DE CONTATO	ENDO-FILL X <i>Streptococcus sanguis</i>			
	TEMPO APÓS MANIPULAÇÃO			
HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.	76,1	82,6	77,6	79,5
2.	73,5	79,9	76,8	79,0
3.	73,1	77,5	74,5	78,3
4.	72,3	76,8	73,2	77,5
5.	71,8	74,5	72,5	76,8
6.	71,3	73,2	71,6	74,5
7.	70,9	72,5	70,0	73,2
8.	70,7	71,4	69,8	72,5
9.	70,5	70,5	69,5	71,6
10.	70,5	70,0	69,3	70,0
11.	70,4	69,3	69,0	69,8
12.	70,4	69,5	68,8	69,5
13.	70,4	69,3	68,6	69,3
14.	70,4	69,0	68,0	69,0
15.	70,4	68,8	67,4	68,8
16.	70,4	68,6	67,0	68,6
17.	70,4	68,0	66,5	68,0
18.	70,4	68,0	66,2	67,4
PLACA	-	-	-	-

TABELA 3.2.2.1. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO ENDO-FILL NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO

TEMPO DE CONTATO	DISSOLUÇÃO DO ENDO-FILL NOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO				
	HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1		98,4	98,0	99,3	94,3
2		98,4	98,0	99,3	92,7
3		98,4	93,9	99,3	92,4
4		98,4	93,9	97,9	90,3
5		98,4	86,9	93,9	90,3
6		98,4	86,9	89,2	90,3
7		98,3	84,6	89,2	87,6
8		98,3	84,6	87,4	87,6
9		97,9	82,3	87,4	87,6
10		97,3	82,3	80,3	87,6
11		96,8	80,2	77,5	87,6
12		96,0	80,2	77,5	87,6
13		96,0	78,0	68,5	87,6
14		94,5	76,3	56,0	87,6
15		94,2	72,2	52,5	87,6
16		92,8	62,5	49,1	87,6
17		92,6	57,7	47,0	87,6
18		92,0	49,9	45,2	87,6

PLACAS: 1, 9 e 18 h (CRESCIMENTO NEGATIVO PARA TODOS OS TEMPOS)

TABELA 3.2.2.2. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO ENDOMETHASONE NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO

TEMPO DE CONTATO	DISSOLUÇÃO DO ENDOMETHASONE NOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO				
	HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1		98,1	98,5	91,6	95,2
2		98,1	97,6	85,7	93,3
3		95,6	97,0	80,2	92,6
4		94,7	96,7	78,4	91,2
5		94,1	95,3	73,5	89,8
6		93,8	94,9	68,0	88,0
7		93,4	93,5	66,1	87,2
8		93,0	93,0	64,3	86,3
9		92,7	92,3	62,7	85,2
10		92,4	91,7	61,4	84,6
11		92,1	91,3	60,3	83,3
12		91,4	91,0	58,6	82,7
13		89,1	90,2	52,7	81,8
14		87,3	90,0	48,4	81,0
15		84,3	88,5	45,7	80,4
16		81,5	86,0	41,9	79,8
17		78,3	83,2	39,9	79,3
18		76,5	80,5	33,5	78,0

PIACAS: 1, 9 e 18 h (CRESCIMENTO NEGATIVO PARA TODOS OS TEMPOS)

TABELA 3.2.2.3. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO SEALER 26 NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO

TEMPO DE CONTATO	DISSOLUÇÃO DO SEALER 26 NOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO				
	HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.		30,5	99,0	100,0	97,5
2.		1,4	97,5	98,0	96,7
3.		0,9	94,8	97,1	96,0
4.		0,7	92,0	96,2	95,3
5.		0,6	89,3	95,4	94,7
6.		0,5	86,6	94,3	94,1
7.		0,5	85,9	94,0	93,6
8.		0,5	84,3	93,1	92,0
9.		0,5	83,1	91,8	90,3
10.		0,5	82,0	90,4	89,4
11.		0,5	79,7	89,3	89,0
12.		0,5	78,3	88,5	88,5
13.		0,5	77,0	85,0	88,0
14.		0,5	71,5	77,7	87,4
15.		0,5	69,2	77,3	87,4
16.		0,5	60,3	77,3	87,3
17.		0,5	54,4	76,9	87,2
18.		0,5	48,5	76,9	87,2

PIACAS: 1,9 e 18 h (CRESCIMENTO NEGATIVO PARA TODOS OS TEMPOS)

TABELA 3.2.2.4. TEMPO DE DISSOLUÇÃO DO AH-PLUS NOS VÁRIOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO

TEMPO DE CONTATO	DISSOLUÇÃO DO AH-PLUS NOS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO				
	HORAS	IMEDIATO	24 HORAS	48 HORAS	7 DIAS
1.		93,0	99,0	96,5	97,0
2.		91,0	98,3	96,0	96,1
3.		89,3	97,7	95,9	95,4
4.		88,0	96,3	95,9	95,0
5.		87,2	95,8	95,8	94,5
6.		86,3	95,3	95,8	94,3
7.		85,5	95,0	95,8	94,0
8.		84,3	94,2	95,7	93,7
9.		83,8	93,8	95,7	93,3
10.		83,7	93,4	95,6	93,0
11.		83,5	93,0	95,6	90,7
12.		83,5	92,7	95,6	89,1
13.		83,3	92,5	95,5	88,3
14.		83,2	92,0	95,4	86,7
15.		83,2	91,6	95,4	85,8
16.		83,2	91,3	93,7	85,1
17.		83,2	91,0	92,4	84,7
18.		83,2	90,9	89,9	84,0

PLACAS: 1, 9 e 18 h (CRESCIMENTO NEGATIVO PARA TODOS OS TEMPOS)

3.2.3. TEMPO DE CRESCIMENTO MICROBIANO X CIMENTOS

Ao estudar o tempo de crescimento microbiano dentro dos cimentos ocorreu um efeito quadrático ($P < 0,01$) do tempo de crescimento, indicando uma (variável) mínima às 17 horas, para o cimento AH-Plus, 15 horas, para o Sealer 26 e para o Endo-Fill e para o Endométhasone o ponto mínimo é 16 horas (Figuras 3.2.3.1 - 3.2.3.4).

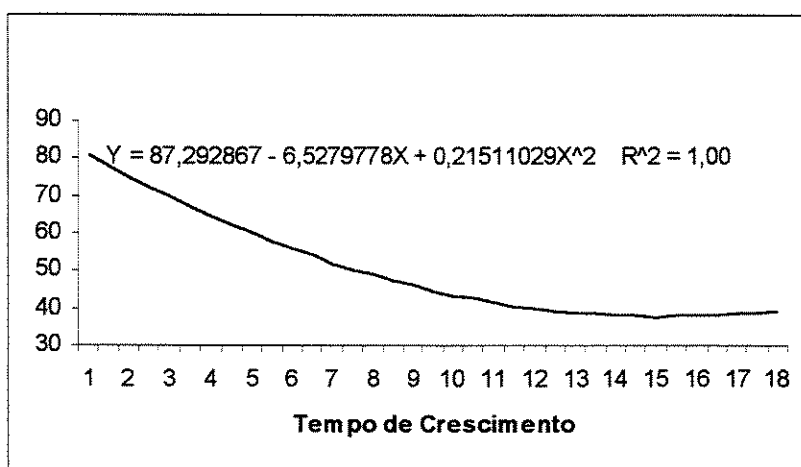


Figura 3.2.3.1 - Tempo de crescimento microbiano em relação ao cimento Endo-Fill (ponto mínimo = 15,0)

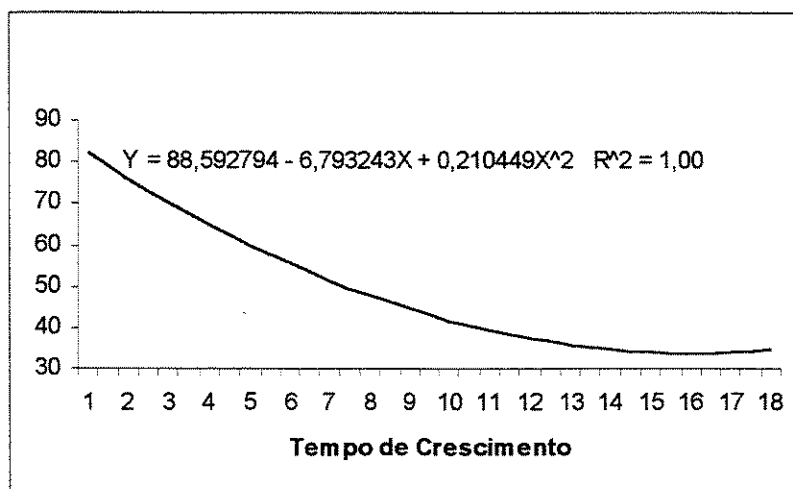


Figura 3.2.3.2 - Tempo de crescimento microbiano em relação ao cimento Endomethasone (ponto mínimo = 16,0)

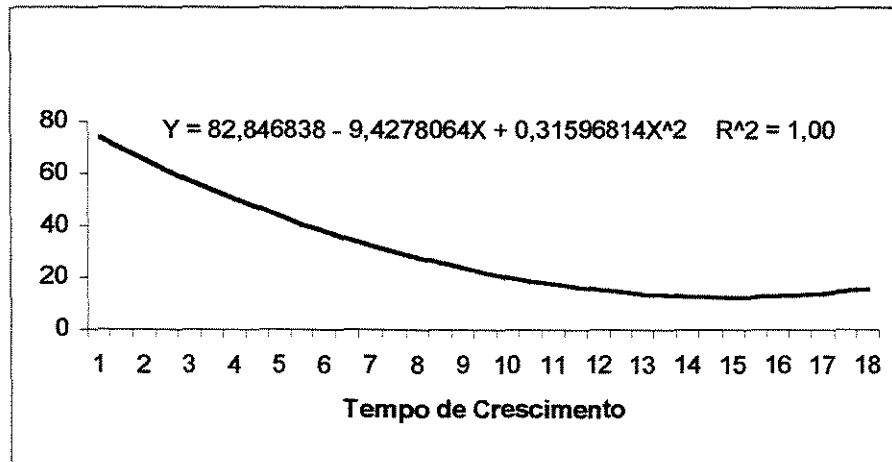


Figura 3.2.3.3 - Tempo de crescimento microbiano em relação ao cimento Sealer 26 (ponto mínimo = 15,0)

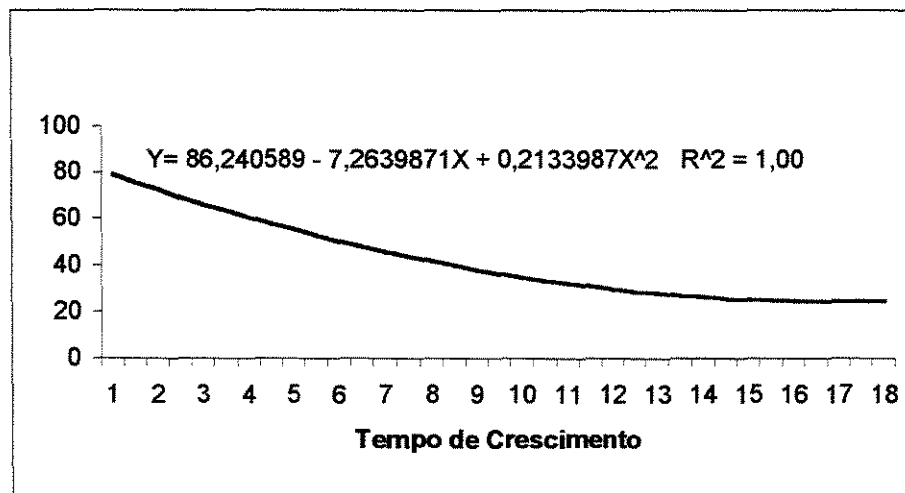


Figura 3.2.3.4 - Tempo de crescimento microbiano em relação ao cimento AH Plus (ponto mínimo = 17,0)

3.2.4. TEMPO DE CRESCIMENTO, DENTRO DO FATOR TEMPO IMEDIATO EM RELAÇÃO AOS DEMAIS TEMPOS APÓS MANIPULAÇÃO

O desdobramento da interação tempo de crescimento dentro do tempo de manipulação do cimento após 24 horas revelou um efeito linear negativo ($b = - 3,514735$) ($P < 0,01$).

Nos demais tempos após manipulação ocorreu um efeito quadrático mínimo ($P < 0,01$) na 15^ª hora do tempo imediato.

Nos tempos de 24 e 48 horas após manipulação, o efeito mínimo ocorreu na 16^ª hora. No tempo de 7 dias após manipulação o efeito mínimo ocorreu na 15,5^ª hora.

Ao estudar o efeito do tempo dentro de cada tempo de crescimento revelou-se que dentro dos tempos 1, 9 e 18 horas do fator tempo de crescimento, o cimento manipulado imediatamente diferiu significativamente ($P < 0,05$) de cada um dos demais tempos (Figuras 3.2.4.1-3.2.4.4).

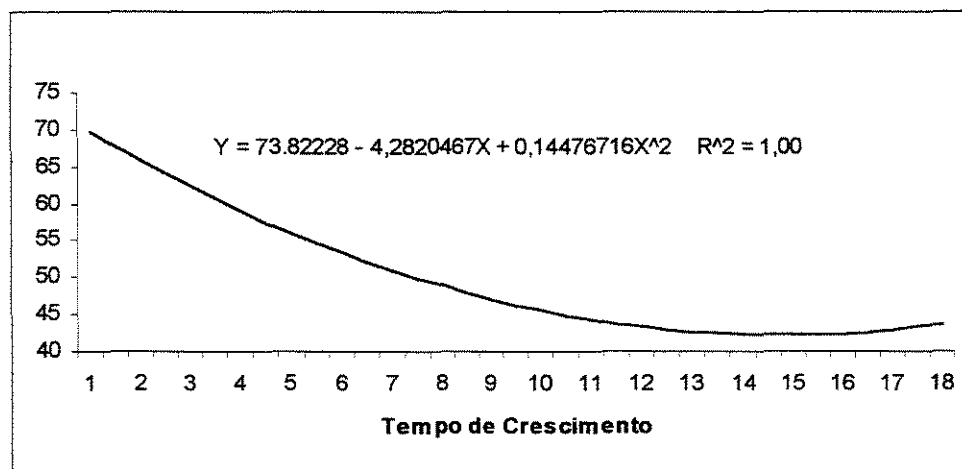


Figura 3.2.4.1 - Tempo de crescimento para o cimento imediato nas 18 horas (ponto mínimo=15h)

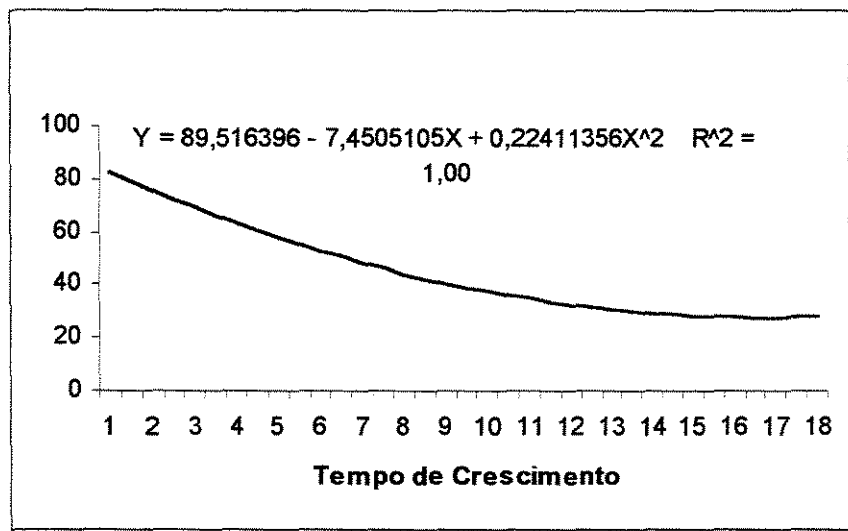


Figura 3.2.4.2 - Tempo de crescimento para o cimento de 24h (após manipulação) nas 18 horas (ponto mínimo=16h)

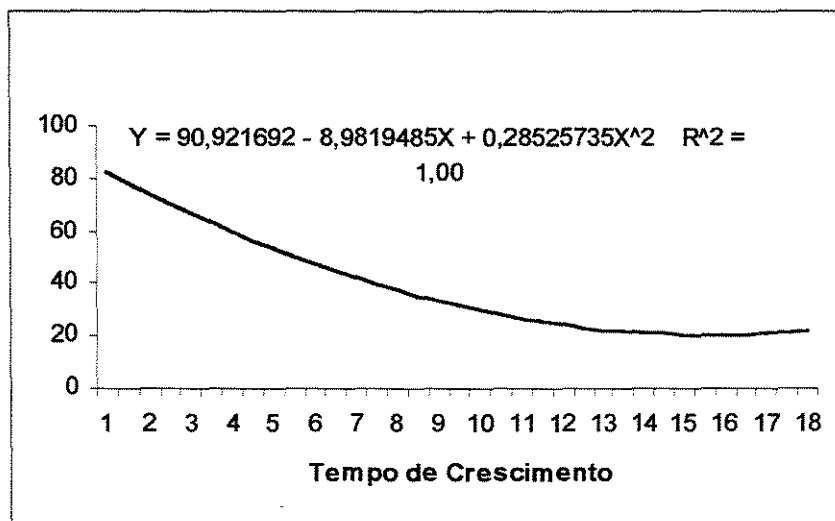


Figura 3.2.4.3 - Tempo de crescimento para o cimento de 48h (após manipulação) nas 18 horas (ponto mínimo=16h)

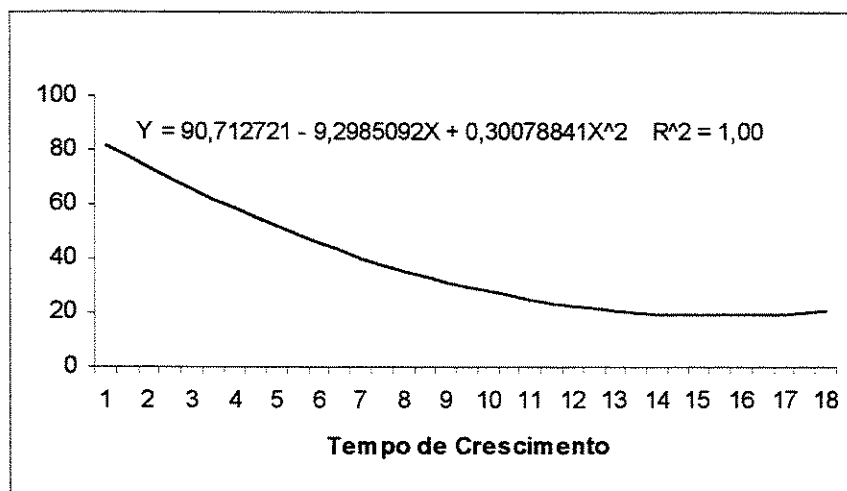


Figura 3.2.4.4 - Tempo de crescimento para o cimento de 7 dias (após manipulação) nas 18 horas (ponto mínimo=15,5h)

3.2.5. DISSOLUÇÃO DOS CIMENTOS

O delineamento usado foi o inteiramente ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo, sendo que a parcela foi constituída pelo fatorial 4 x 4 , respectivamente, cimento e tempo, e a subparcela pelos tempos de crescimento (0, 9 e 18 horas).

A análise da variância revelou efeito significativo ($P < 0.01$) somente do Tempo de Dissolução, apesar do Sealer 26 ter mostrado um valor menor que os demais.

A análise da regressão indicou um efeito linear negativo ($b = -1,4049683$) ($P < 0.01$) da (variável) sobre o tempo de crescimento. Não ocorreram diferenças significativas ($P > 0.01$) entre os cimentos e o tempo de manipulação (imediato, 24 h, 48 h, e 7 dias) (Tabela 5.2.9.1. e Figura 3.2.5.1. -Anexo).

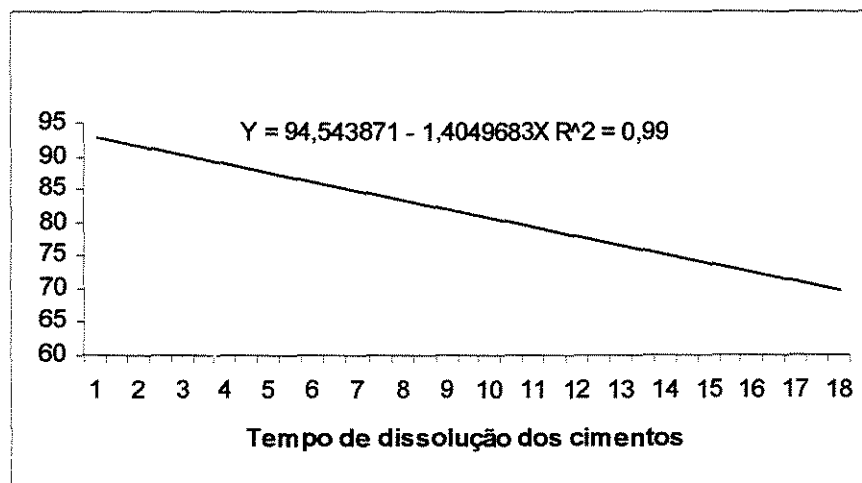


Figura 3.2.5.1 - Tempo de dissolução dos cimentos