

NEYLLA TEIXEIRA SENA

**Propriedades antimicrobianas do cimento AH Plus,
Sistema Epiphany e de cones de guta-percha e Resilon
desinfetados**

**Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Clínica Odontológica - Área de
Endodontia**

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

PIRACICABA

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Se55p Sena, Neylla Teixeira.
Propriedades antimicrobianas do cimento AH Plus, Sistema Epiphany e de cones de gutta-percha e Resilon desinfetados. / Neylla Teixeira Sena. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. *Atividade antimicrobiana.* 2. *Microorganismos.* 3. *Clorexidina.* 4. *Hipoclorito de sódio.* I. *Gomes, Brenda Paula Figueiredo de Almeida.* II. *Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba.* III. *Título.* (mg/fop)

Título em Inglês: Antimicrobial activity of AH Plus and Epiphany sealers and disinfected cones of gutta-percha and Resilon

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Antimicrobial activity. 2. Microorganisms. 3.

Chlorhexidine. 4. Sodium hypochlorite

Área de Concentração: Endodontia

Titulação: Doutor em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Marcia da Silva Schmitz, Ericka Tavares Pinheiro, José Flavio Affonso de Almeida, Alexandre Augusto Zaia

Data da Defesa: 20-02-2009

Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 20 de Fevereiro de 2009, considerou a candidata NEYLLA TEIXEIRA SENA aprovada.

PROFa. DRa. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

PROFa. DRa. MARCIA DA SILVA SCHMITZ

PROFa. DRa. ERICKA TAVARES PINHEIRO

PROF. DR. JOSÉ FLÁVIO AFFONSO DE ALMEIDA

PROF. DR. ALEXANDRE AUGUSTO ZAIA

Dedico este trabalho ...

... à minha filha, Rachel Sena Simões, razão do meu viver.

... à minha mãe, Maria Ocimar, pelo amor, dedicação e apoio em mim depositados. Esta conquista também é sua.

...a todos os meus familiares, em especial a Ronald, Vera e Julia por todos os momentos já vividos e que ainda iremos trilhar.

Agradeço ...

...a Deus, Pai todo poderoso

“Senhor, a ti toda a honra e toda a gloria. Tu és o meu amparo e o meu refúgio, é a alegria de minha alma. Só por ti. Obrigada Senhor”.

Agradeço ...

... à minha Orientadora, Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, pela oportunidade e dedicação profissional. Obrigada por ter sido minha orientadora e grande responsável por esta realização em minha vida.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do diretor Prof. Dr. Francisco Haiter Neto e do diretor associado Prof. Dr. Marcelo de Castro Meneghim.

Ao Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior, coordenador geral dos cursos de Pós-Graduação e à Prof. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia, coordenadora do curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

Ao Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, responsável pela área de Endodontia da FOP UNICAMP, pela oportunidade da realização deste trabalho.

Aos Professores Doutores Alexandre Augusto Zaia, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Caio Cezar Randi Ferraz, Francisco José de Souza Filho e José Flávio Affonso de Almeida, professores da disciplina de Endodontia da FOP -UNICAMP, pelos conhecimentos transmitidos e agradável convivência.

À Coordenação de Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas (FAPEAM) pela concessão da bolsa de estudo para o doutorado.

Ao Adailton dos Santos, que durante sua permanência como funcionário da área de Endodontia da FOP-UNICAMP, mostrou-se sempre pronto a atender quaisquer solicitações.

À Geovania Caldas Almeida, estagiária do laboratório de Endodontia da FOP-UNICAMP, pelo grande auxílio na realização deste trabalho.

À Wanderly Lima de Almeida, funcionária da área de Endodontia da FOP-UNICAMP, pela disponibilidade em ajudar sempre que solicitada.

Aos colegas de doutorado, Adriana de Jesus Soares, Cláudio Maniglia Ferreira, Egas Moniz de Aragão, José Flávio Affonso de Almeida, Luciano Tavares Ângelo Cintra, Juliana Nascimento Santos, Thais Accorci Mendonça e Vanessa Bellocchio Berber pelo companheirismo e amizade construída durante nosso convívio.

Às diversas gerações de alunos da pós-graduação em Endodontia da FOP-UNICAMP, pela convivência agradável ao longo destes anos e que certamente deixará muitas saudades.

Aos meus queridos amigos Morgana Eli Vianna, Rogério de Castilho Jacinto, Vanessa Bellocchio Berber, Fernanda Graziela Correa Signoretti, Francisco Montagner, Geovania Caldas Almeida, pela amizade, apoio e inúmeras horas acordados.

À Danna Mota Moreira e Ana Carolina Machado Rocha Lima, por todo o apoio e acolhida.

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

RESUMO

Este estudo investigou: a) a atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos (AH Plus e Epiphany) frente a microrganismos encontrados na microbiota intracanal (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii* e *Candida albicans*); b) a microinfiltração coronária de dentes obturados com AH Plus/ guta-percha e Epiphany/ Resilon; c) os possíveis efeitos antimicrobianos residuais destas substâncias nos cones quando em contato com *E. faecalis* e *Porphyromonas gingivalis*, d) as alterações na superfície dos cones de guta-percha e Resilon expostos à desinfecção com clorexidina gel 2% e hipoclorito de sódio 5,25%. A ação antimicrobiana dos cimentos foi testada através de dois métodos: o de contato direto nos tempos: imediato, 24 h, 48 h, 7 e 14 dias após a espatulação, e através do teste de difusão em Agar. A avaliação da microinfiltração coronária de dentes obturados endodonticamente foi acompanhada diariamente por 90 dias após a contaminação. A ação residual dos agentes desinfetantes sobre a superfície dos cones foi observada através do método de difusão em Agar (nos períodos de 1, 5, 10, 20 e 30 min), e as alterações estruturais na superfície dos cones foram testadas através de análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Quanto ao método de contato direto os resultados foram: O cimento AH Plus teve maior atividade antimicrobiana que o Epiphany, o Epiphany apresentou grande dissolução em todos os tempos testados ($p < 0.05$), *A. naeslundii* foi o microrganismo mais suscetível e *E. faecalis* o mais resistente a todos os cimentos testados. Quanto ao método de difusão em Agar a maior atividade antimicrobiana foi a do Primer, seguida do AH Plus e do Epiphany. *C. albicans* foi o microrganismo mais suscetível e o *S. aureus* o mais resistente. Quanto à prevenção da microinfiltração coronária, AH Plus/guta-percha foi superior ao sistema Epiphany ($p < 0.05$). Os dentes obturados com o sistema Epiphany apresentaram clinicamente alterações de cor em suas raízes. Quanto à atividade antimicrobiana das substâncias químicas auxiliares sobre os cones, estas foram incapazes de se unirem aos componentes dos cones de guta-percha e de apresentarem efeito residual. Entretanto o cone de Resilon apresentou ação antibacteriana residual quando exposto a clorexidina gel. Quanto às alterações estruturais dos cones em MEV, não foi encontrada modificação nas características superficiais dos cones e nem presença de cristais de cloreto. Em conclusão, os resultados sugerem que o sistema Epiphany não demonstrou ser superior ao AH Plus quanto à ação antimicrobiana e à prevenção da microinfiltração coronária, e

que as substâncias químicas auxiliares usadas na desinfecção dos cones de guta-percha e de Resilon não apresentaram ação residual nos cones de guta-percha e nem alteraram a superfície dos dois tipos de cones testados. Entretanto o cone de Resilon apresentou ação antibacteriana residual quando exposto à clorexidina gel.

PALAVRAS CHAVES: cimentos endodônticos, AH Plus, Epiphany, atividade antimicrobiana, microrganismos, substâncias químicas auxiliares, clorexidina gel, hipoclorito de sódio

ABSTRACT

The aims of the present study were to investigate: a) the antimicrobial property of endodontic sealers (AH Plus and Epiphany) against the following microorganisms: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii* and *Candida albicans*; b) the coronal microleakage of teeth obturated with AH Plus/ gutta-percha and Epiphany/ Resilon; c) to evaluate the alterations on the surface of the gutta-percha and Resilon cones disinfected with 2% CHX-gel and 5.25% NaOCl; d) the possible residual antimicrobial properties of these substances on the cones when in contact with *E. faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*. The antimicrobial properties of endodontic sealers were tested by two methods: the direct contact at different times (immediately, 24/ 48 hours and after 7/14 days) and the Agar diffusion method. The coronal microleakage was followed daily during 90 days after contamination. The residual property of the disinfectant agents on the cones was tested by the Agar diffusion method (at 1, 5, 10, 20 and 30 min) and the alterations on the surface structure of the cones were observed by the Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis. Regarding the direct contact method, the results are: the AH Plus sealer showed greater antimicrobial than the Epiphany; Epiphany presented greater dissolution during all tested times ($p < 0.05$). *A. naeslundii* was the most susceptible microorganism and *S. aureus* the most resistant against all tested sealers. Regarding the Agar diffusion method, the greatest antimicrobial activity was achieved by the primer, followed by AH Plus and Epiphany. *C. albicans* was the most susceptible microorganism, while *S. aureus* was the most resistant. Regarding the prevention of the coronal microleakage, AH Plus/ gutta-percha presented better results than the Epiphany system ($p < 0.05$). All teeth filled with Epiphany system presented color alteration on the root surface. Regarding the antimicrobial property of the auxiliary chemical substances on the cones, both chemical agents were unable to bind to the gutta-percha cone components and to release themselves into the Agar medium during all the periods of time tested. Nevertheless, when disinfected with 2% CHX gel, the Resilon cone demonstrated a residual action. Regarding the residual property of the disinfectants on the surface of the cones, SEM analysis showed no alteration on their superficial features. In conclusion, the results suggest that the Epiphany system was not superior to the AH Plus regarding the antimicrobial action and the prevention of the coronal microleakage, and the auxiliary chemical substances used in the disinfection of gutta-percha and Resilon cones did not

show any residual action on the gutta-percha cones and did not cause any damage on the surface of both types of cones. However, the Resilon cones showed a residual antibacterial action when exposed to the chlorhexidine gel.

KEY WORDS: endodontic sealers, AH Plus, Epiphany, antimicrobial activity, microorganisms, chemical auxiliary substances, chlorhexidine gel, sodium hypochlorite.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	5
3	PROPOSIÇÃO	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
5	RESULTADOS	63
6	DISCUSSÃO	103
7	CONCLUSÃO	125
8	REFERÊNCIAS	126
	ANEXOS	147
	APÊNDICE	148

1 INTRODUÇÃO

A obturação tridimensional do sistema de canais radiculares, aliada a uma limpeza e modelagem, assim como a um eficiente selamento coronário, são determinantes para o sucesso da terapia endodôntica.

A filosofia predominante referente à obturação é aquela que consiste em ocupar todo o sistema de canais radiculares, lançando mão do uso de um cimento endodôntico que proporcione uma boa adesão à parede dentinária, que possua estabilidade dimensional, seja insolúvel, que permita a cicatrização normal e o selamento biológico pela deposição de tecido mineralizado, nas regiões apicais e periapicais, e que apresente ação antimicrobiana, associado a um núcleo sólido ou semi-sólido (Leal 1991; De Deus *et al.*, 2002; Endodontics AAO, 2004).

O termo “cone de guta-percha” é normalmente utilizado para definir o material utilizado como núcleo sólido de obturação, independentemente se a técnica de obturação for a frio ou termoplastificada (Hauman & Love, 2003). Mais recentemente foi introduzido no mercado um sistema de obturação que utiliza um cone de resina fluida termoplastificável, semelhante à guta-percha, denominado Resilon (Shipper *et al.*, 2004).

Apesar de serem confeccionados dentro de condições assépticas, cones de guta-percha e Resilon podem ser contaminados durante sua manipulação, sua estocagem ou por aerossóis existentes no consultório (Da Motta

et al., 2000, 2001; Souza *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2005). A utilização de material contaminado durante a obturação pode reintroduzir microrganismo para o interior do sistema de canais, e, portanto prolongar a infecção, ou inibir a cicatrização. Por isso, a descontaminação dos cones, é preconizada (Royal *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, 2005).

Os cimentos endodônticos resinosos têm sido desenvolvidos com o intuito de promover uma adesividade à parede dentinária do canal radicular. Esta melhora tem sido conseguida através da incorporação de monômeros de resina e uso de condicionamento (Bouillaguet *et al.*, 2006).

O cimento AH Plus (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) é um cimento resinoso que é apresentado sob a forma de pasta-pasta, tendo como base a resina epoxiamina. Este cimento possui alta radiopacidade, baixa solubilidade, pouca contração, adaptação às paredes do canal radicular, estabilidade dimensional, bom comportamento biológico e atividade antimicrobiana (AL-Kathar *et al.*, 1995; Almeida, 1997).

Epiphany é um sistema de obturação de canais radiculares composto por um cimento resinoso de polimerização dual denominado Epiphany, do cone de Resilon e pelo Primer que formam um único bloco no interior do canal radicular (Shipper *et al.*, 2004).

É notório que apenas a obturação do canal radicular com o conjunto cimento/cone não é o suficiente para impedir a recontaminação do sistema de

canais radiculares por bactéria presentes na cavidade oral, e que estas tenham acesso à região periapical (Cortez, 2002). Aliado a este fator, existe o decréscimo da atividade antimicrobiana dos cimentos com o passar do tempo (Timpawat *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2004).

Tendo em vista a importância da atividade antimicrobiana e seladora dos cimentos, assim como a desinfecção dos cones que são utilizados na obturação endodôntica a proposta deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana e a infiltração coronária *in vitro* de cimentos endodônticos (AH Plus e Sistema Epiphany), frente a algumas cepas microbianas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii* e *Candida albicans*), utilizando três diferentes metodologias: O método de difusão em Agar, o método de contato direto e infiltração coronária. Teve como objetivo também avaliar alterações morfológicas na superfície dos cones de guta-percha e Resilon expostos à clorexidina gel 2% e hipoclorito de sódio 5,25%, através da Microscopia Eletrônica de Varredura e o possível efeito antimicrobiano residual frente ao *Enterococcus faecalis* e *Porphyromonas gingivalis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICROBIOTA DA INFECÇÃO INTRARRADICULAR

No final do século XIX a endodontia era realizada de forma empírica, pois não se conhecia o papel dos microrganismos na indução e perpetuação das alterações da polpa e dos tecidos perirradiculares. O primeiro estudo microbiológico em endodontia data-se de 1894, quando Miller após a análise de material coletado do interior de canais radiculares fez a correlação entre bactérias e patologias pulpares e periapicais. Um estudo clássico, publicado em 1965, por Kakehashi *et al.*, confirmou a importância das bactérias no desenvolvimento das doenças pulpares e perirradiculares. Estes pesquisadores, expondo a polpa dental de ratos convencionais e “germ-free” à cavidade oral, observaram a formação de necrose pulpar e lesão perirradicular somente em ratos convencionais. Nos ratos germ-free, ocorreu reparo com pontes da dentina independente da dimensão da exposição pulpar, demonstrando que a ausência ou presença de bactérias é determinante para o aparecimento das alterações pulpares e periapicais.

Estudos microbiológicos realizados até a metade da década de 70 demonstravam um predomínio de bactérias facultativas, entre as quais as espécies mais comumente isoladas eram: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus*

salivarius, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e enterococos. No entanto, com o advento de técnicas para o cultivo de microrganismos anaeróbios estritos, Sundqvist, em 1976, revolucionou os conceitos existentes na época. Ele avaliou 32 dentes hígidos que apresentavam polpa necrótica causada por injúria. Dos 19 dentes que apresentavam lesões periapicais comprovadas através de exames radiográficos, 18 continham bactérias, confirmando a importância dos microrganismos na etiopatogenia das lesões pulpares. Esta importância foi confirmada através do trabalho realizado por Möller *et al.*, em 1981, onde demonstraram que polpas desvitalizadas de macacos que não sofriam contaminação bacteriana não apresentavam mudanças na região periapical.

Cerca de 700 espécies foram detectadas na cavidade oral humana (Aas *et al.*, 2005). Em princípio, todas essas espécies têm a possibilidade de atingir o sistema de canais radiculares e potencial de serem patógenos endodônticos (Jung *et al.*, 2000). Porém somente cerca de 200 espécies foram identificadas do interior do sistema de canais radiculares e usualmente em combinações de quatro a sete espécies, com grande prevalência de anaeróbios estritos (Sundqvist *et al.*, 1992a; Gomes *et al.*, 1996a; Lopes & Siqueira, 1999; Jung *et al.*, 2000; Siqueira, 2002; Gomes *et al.*, 2004).

Os microrganismos mais comumente isolados dos canais radiculares são os anaeróbios facultativos, entre os mais encontrados são os cocos do gênero *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Gemella*. Também são relatados, em menor frequência as espécies *Enterobacter*, *Bacillus*, *Tissierella*, *Campylobacter* e

Actinobacillus spp. Com mais raridade são isolados *Hafnia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Aerobacter* e *Alcaligenes spp.* Dos gêneros anaeróbios estritos, tais como *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* e *Capnocytophaga spp.* Em menor frequência são também encontrados a *Neisseria*, *Haemophilus*, *Eikenella*, *Staphylococcus*, *Mitsuokella* e *Wolinella spp.* e os aeróbios *Mycobacteria*, *Nocardia*, *Mima*, *Pseudomonas* e *Micrococcus spp.* (Sundqvist, 1994). Espiroquetas (Thilo *et al.*, 1986; Nair, 1987), *Mycoplasma* (Serene & Anderson, 1967) e *Candida* (Sen *et al.*, 1995; Siren *et al.*, 1997).

Enterococcus faecalis, são cocos facultativos anaeróbios Gram-positivos, responsáveis por cerca de 80-90% de infecções enterococais em humanos, sendo a espécie de enterococos mais prevalente nos canais radiculares (Molander *et al.*, 1998, Sundqvist *et al.*, 1998). Esses microrganismos produzem elastase, proteases e hemolisinas que são fatores de virulência que possuem papéis relevantes na patogênese das periodontites. Além destes fatores, várias cepas podem produzir beta-lactamase, tornando-os capazes de causar infecções difíceis de serem tratadas (Rams *et al.*, 1992; Sundqvist, 1992b).

Love (2001) demonstrou que a habilidade do *E. faecalis* em causar doenças periapicais e insucessos em dentes tratados endodonticamente sugere ser devido a sua capacidade de invadir túbulos dentinários e de permanecer viável no seu interior. Estes fatos indicam o seu papel no desenvolvimento das lesões periapicais resistentes (Gomes *et al.*, 1996b; Siren *et al.*, 1997; Gomes *et al.*,

2001; Love, 2001) e sua associação com o insucesso do tratamento endodôntico (Sundqvist *et al.*, 1998; Dahlén *et al.*, 2000; Love, 2001; Peciulienė *et al.*, 2001).

Investigações microbiológicas e estudos de microscopia eletrônica de varredura têm correlacionado a presença de fungos, especialmente da espécie *Candida albicans* ao insucesso do tratamento endodôntico (Nair *et al.* 1990, Waltimo *et al.*, 1997 e 1999). O mecanismo de virulência utilizado pela *Candida albicans* está relacionado com sua capacidade de adaptação a variações ambientais, adesão a várias superfícies, produção de enzimas hidrolíticas, transição morfológica, formação de biofilme, e invasão e imuno-modulação das células de defesa (Hagihara *et al.*, 1988; Ferguson *et al.*, 2002; Siqueira & Sen, 2004; Radcliffe *et al.*, 2004).

Usando microscópio eletrônico de varredura, Nair *et al.*, (1990) analisaram nove casos de periodontite apical resistente e relataram à presença de *C. albicans* em dois casos. Najzar-Fleger *et al.*, (1992) estudando a prevalência de *C. albicans* na cavidade oral relataram sua presença em 55% dos canais radiculares estudados.

Avaliando a prevalência de leveduras na saliva e canais radiculares de dentes associados à periodontites apicais, Egan *et al.*, (2002) demonstraram em seu estudo que a presença de leveduras no interior do sistema de canais não é muito freqüente (em torno de 10%), mas diretamente associada com a sua presença na saliva.

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos, catalase positiva, similares a cachos de uvas. São patógenos em potencial, estando presentes na nasofaringe de até 40% dos indivíduos, de onde podem alcançar a cavidade oral. *S. aureus* não possuem um papel significativo nas infecções orais e endodônticas, podendo estar relacionados a infecções associadas a feridas cirúrgicas. Nos anos sessenta questionava-se se este microrganismo é recuperado do sistema de canais ou se são contaminastes externos (Myers *et al.*, 1969). São associados com abscesso odontogênicos, abscessos associados a implantes ósseo-integrados e osteomielite, assim como ao insucesso do tratamento endodôntico (Goldman & Pearson, 1969) e a resistência a irrigantes endodônticos (Weine, 1991).

Actinomyces naeslundii são bacilos Gram-positivos que ocupam a cavidade oral. Essas bactérias contribuem para a formação da placa dental, das doenças periodontais e cáries dentárias. É uma das primeiras bactérias a colonizar a cavidade oral e a superfície dentária (Marsh, 2003; Xia & Baumgartner, 2003). É encontrado em grande número na cavidade oral, entretanto pouco se sabe a seu respeito. *Actinomyces naeslundii* cataboliza sucrose e sintetiza polímeros de frutose; contribuindo para a ecologia da placa e pode estar relacionado com a cárie dentária (Marsh, 2003; Xia & Baumgartner, 2003).

Os Bacilos produtores de pigmento negro (BPPN) foram isolados primeiramente em 1921 por Oliver e Wherry (Mayrand & Holt, 1988). Estes bacilos anaeróbios estritos Gram-negativos podem ser isolados de diversas regiões como:

cavidade oral, urina, fezes, trato respiratório e infecções pós-cirúrgicas em humanos. Oliver e Wherry (1921) em sua pesquisa notaram que após o cultivo, os BPPN formavam colônias pigmentadas de negro. Este pigmento foi considerado erroneamente como sendo melanina, levando estes pesquisadores a denominarem estes microrganismos de *Bacteroides melaninogenicus* (Mayrand & Holt, 1988).

Por volta de 1970, tornou-se evidente a heterogeneidade entre as cepas de *B. melaninogenicus*, mostrando a necessidade da divisão desta espécie em subespécies, baseado em suas propriedades de fermentação. Cepas bacterianas sacarolíticas foram classificadas em dois grupos: *Bacteroides melaninogenicus*, subespécie *melaninogenicus* com grande capacidade de fermentação; e *B. melaninogenicus*, subespécie *intermedius*, com capacidade limitada de fermentação. As cepas assacarolíticas foram agrupadas na subespécie *asaccharolytica* (Mayrand & Holt, 1988). Estudos das características bioquímicas e genéticas realizados elevaram as subespécies existentes ao nível de espécies e evidenciaram a heterogeneidade entre as cepas de *Bacteroides*. Como consequência, outras espécies foram descritas: *Bacteroides gingivalis* e *Bacteroides endodontalis* (Mayrand & Holt, 1988).

Em 1988, Shah e Collins (1988) propuseram a reclassificação do grupo assacarolítico em um novo gênero: *Porphyromonas* (*porphyreos*: púrpura; *monas*: unidade – relativa à coloração do pigmento produzido por esses microrganismos),

compreendendo três espécies: *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas gingivalis* e *Porphyromonas endodontalis*. Em seguida, as cepas sacarolíticas foram reclassificadas em um novo gênero: *Prevotella*, em homenagem a Prévot, microbiologista francês, sendo composto por sete espécies: *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella tannerae*, *Prevotella loescheii*, *Prevotella denticola*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Prevotella corporis* (Shah & Collins, 1990).

Porphyromonas são encontradas em cerca de 50% das infecções endodônticas, estando relacionada na maioria das vezes com a sintomatologia dolorosa, formação de fístula e odor fétido (Haapasalo *et al.*, 1986; Gomes *et al.*, 2004).

Sundqvist *et al.* (1989) reportaram a presença de BPPN em cerca de 30% dos canais radiculares e que a presença de *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, e *P. intermedia* em infecções mistas é essencial para o desenvolvimento de inflamações perirradiculares purulentas.

2.2 ESTRATÉGIAS DO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

O sucesso da terapia endodôntica depende de vários passos interdependentes, tais como: limpeza e modelagem, patência foraminal, anti-sepsia, obturação tridimensional do sistema de canais radiculares e selamento coronário (Peters, 2004).

O processo de limpeza e modelagem do sistema de canais radiculares assume um papel decisivo nesta cadeia interdependente, pois determina a eficácia das etapas subseqüentes, que inclui: o debridamento mecânico, com a remoção de tecidos moles e duros; permitir que as substâncias químicas auxiliares tenham acesso ao espaço do canal na porção apical; a criação de espaço para a distribuição de medicamentos; a otimização da geometria do canal para a realização de uma obturação adequada; e a manutenção da integridade das estruturas radiculares (Peters, 2004; Cohen & Hargreaves, 2007).

A obturação tridimensional é um reflexo da limpeza e modelagem, sendo avaliada com base na extensão, conicidade, densidade e selamento coronário. Deve ser realizada de forma compacta, com agentes não irritantes capazes de promoverem um selamento completo (Rosa *et al.*, 2002).

O Guia de Endodontia Clínica da American Association of Endodontics, ressalta que os cimentos endodônticos devem ser usados em conjunto com um

material obturador sólido ou semi-sólido, biocompatível, para que seja realizado um selamento adequado do sistema de canais radiculares (Endodontists AAO, 2004). A obturação deve eliminar as vias de infiltração, tanto a originária da cavidade bucal, como a dos fluidos dos tecidos periapicais; deve eliminar espaços vazios, evitando assim a proliferação de bactérias; evitar que toxinas, remanescentes pulpare e tecidos necrosados possam alcançar os tecidos periapicais, causando irritação ou perpetuação do processo inflamatório (Gutmann & Witherspoon, 2002; Vivaqua-Gomes *et al.*, 2005).

Para a obtenção de obturações herméticas além de técnicas aprimoradas, são necessários materiais seladores de boa qualidade. Para tanto, é necessário que os produtos empregados com esta finalidade preencham uma série de propriedades ressaltada por vários pesquisadores (Hizatugu & Valdrighi, 1974; Grossman, 1980; Berbert *et al.*, 1980) tais como:

- Ser de fácil manipulação e proporcionar um bom tempo de trabalho;
- Ser estável dimensionalmente, sem sofrer contração após a sua inserção;
- Proporcionar selamento do canal lateral, como apical, ajustando-se a anatomia interna do dente;
- Não ser irritante aos tecidos perirradiculares;
- Não ser poroso e impermeável à umidade;

- Não sofrer corrosão ou oxidação;
- Inibir o crescimento bacteriano;
- Ser radiopaco;
- Não alterar a cor da estrutura dentária;
- Ser estéril;
- Se necessário, ser de fácil remoção do canal radicular.

Os cimentos endodônticos associados aos cones de guta-percha constituem elementos seladores de fundamental importância. Os cimentos possuem a função de selar a interface parede dentinária/material obturador principal ou cone (Cohen & Burns, 2000; Sly *et al.*, 2007), de evitar que exsudato proveniente do tecido periapical penetre por difusão no interior do canal radicular e que bactérias remanescentes após tratamento não alcancem o tecido periapical (Grossman, 1980).

Além disto, os cimentos preenchem irregularidades e espaços nos canais principal, lateral e acessório e entre os cones de guta-percha acessórios utilizados na condensação lateral (Mickel *et al.*, 2003), e ainda possuem a função de lubrificante durante o processo de obturação (Cohen & Burns, 2000).

Inúmeros trabalhos de pesquisa (Grossman, 1958; Branstetter & Fraunhofer, 1982; Geurtsen, 2001; Carrote, 2004) têm ressaltado as propriedades necessárias para um bom cimento obturador de canais radiculares:

- Promover um selamento hermético;
- Ser biocompatível, ou seja, não provocar irritação aos tecidos perirradiculares;
- Ser bacteriostático ou, pelo menos não estimular o crescimento bacterianos;
- Ser insolúvel nos fluidos teciduais;
- Ser radiopaco;
- Não sofrer contração ao tomar presa;
- Possuir um tempo de trabalho longo;
- Promover uma boa adesividade entre ele e as parede do canal após a presa;
- Não manchar as estruturas dentárias;
- Ser de fácil remoção do canal radicular, quando se fizer necessário.

Atualmente nenhum produto preenche os requisitos de um cimento ideal. Todos os cimentos, em maior ou menor grau, mostram-se tóxicos quando recém-espatulados, tendo esta toxicidade reduzida após a sua presa (Eldeniz *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2004).

Existem várias formulações para os cimentos endodônticos, entre os mais populares existem os cimentos a base de óxido de zinco e eugenol, cimentos à base de hidróxido de cálcio, à base de ionômero de vidro e resina (sendo este último objeto desta tese).

Os cimentos resinosos apresentam baixa solubilidade (Carvalho-Junior *et al.*, 2003), bom selamento apical (Souza-Neto *et al.*, 2002) e produzem microretenção na dentina radicular (Tagger *et al.*, 2002). A melhoria na adesividade tem sido conseguida através da incorporação de monômeros de resina e o uso de condicionamento (primer) (Bouillaguet *et al.*, 2006).

Recentemente, na tentativa de substituição do cone de guta-percha, foi desenvolvido um cone de polímero termoplastificado (Resilon) que quando associado a um cimento resinoso de polimerização dual (Epiphany) produzem uma obturação em monobloco (Shipper *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2004).

2.2.1 AH Plus

O cimento AH Plus (Dentsply International, York, PA, USA) apresenta-se sob a forma de pasta-pasta, tendo como base a resina epoxiamina, possuindo a proporção indicada para o seu preparo de 1:1, em volume. O tempo de trabalho é de aproximadamente quatro horas a 23°C e o tempo de endurecimento é de cerca de oito horas a 37°C (Almeida, 1997). Este cimento é uma modificação do AH 26 (Dentsply International) e possui a seguinte formulação:

a) Pasta A (Epóxi):

- Diglycidil-bisphenol-A-eter;
- Tungstênio de cálcio;
- Óxido de zircônio;
- Aerosil;
- Óxido de ferro.

b) Pasta B (Amina):

- Amina 1- adamantina;

- N, N'-Dibenzil-5-oxanonano-diamina-1,9;
- TCD-Diamina;
- Tungsteanato de cálcio;
- Óxido de zircônio;
- Óleo de silicone; e,
- Aerosil.

O AH Plus apresenta como característica ser de fácil manipulação, boa adaptação às paredes do canal radicular e apresentar excelente estabilidade dimensional em longo prazo (Almeida, 1997; AL-Kathar *et al.*, 1995; Pécora *et al.*, 2001; McMichen *et al.*, 2003; Bouillaguet *et al.*, 2006). Além destas características, o AH Plus tem demonstrado possuir baixa solubilidade (Orstavik *et al.*, 1983; McMichen *et al.*, 2003; Schafer & Zandibi, 2003; Versiani *et al.*, 2006).

Inúmeras pesquisas têm demonstrado a toxicidade do AH Plus, sendo esta classificada de moderada à severa (Leonardo *et al.*, 1999; Cohen *et al.*, 2000; Azar *et al.*, 2000; Eldeniz *et al.*, 2007; Merdad *et al.*, 2007). A toxicidade deste cimento quando recém-espatulado é considerada alta e se mantém por certo período, diminuindo após sua presa (Huang *et al.*, 2004; Eldeniz *et al.*, 2007). O fabricante deste cimento e alguns pesquisadores afirmam que o AH Plus não

apresenta em sua formulação o formaldeído e que não há nenhuma liberação deste componente após a sua espatulação (Huang *et al.*, 2002; Mickel *et al.*, 2003; Merdad *et al.*, 2007). Outras pesquisas têm atribuído a toxicidade deste cimento à liberação de formaldeído (Leonardo *et al.*, 1999; Cohen & Burns, 2000; Huang *et al.*, 2004; Milétić *et al.*, *al.*, 2005). Além deste fator, a toxicidade deste cimento é associada à liberação dos componentes amina e resina epóxi existentes na sua composição (Leonardo *et al.*, 1999; Cohen & Burns, 2000, Huang *et al.*, 2004; Milétić *et al.*, 2005; Eldeniz *et al.*, 2007).

Souza *et al.*, (2006) ao testarem a biocompatibilidade do AH Plus em implantes intra-ósseos em mandíbula de porcos constataram que este cimento apresentou severa inflamação em até 4 semanas e moderada em até 12 semanas. Esta resposta inflamatória, com a indução de degeneração de tecido epitelial e assim como de um infiltrado de células inflamatórias, aliada à reação alérgica e necrose de tecido conjuntivo, estavam relacionados com a liberação de formaldeído.

A ação antimicrobiana do cimento AH Plus é devido à presença do “Diglycidil-bisphenol-A-ether” em sua composição, a qual é considerada como componente mutagênico na composição da resina (Heil *et al.*, 1996). Aliado a este fator, durante o processo de polimerização do cimento, ocorre uma discreta liberação de formaldeído (Cohen *et al.*, 1998, Leonardo *et al.*, 1999). A união destes fatores confere a este cimento ação antimicrobiana (Çobankara *et al.*, 2004; Miyagak *et al.*, 2006).

Kopper *et al.*, 2003 ao avaliarem *in vivo* a capacidade seladora do cimento AH Plus e mais dois cimentos (Sealer 26 e Endofill) afirmaram que este cimento apresenta um bom selamento. Este selamento é devido às características existentes no AH Plus, tais como: boa adaptação à parede dentinária, estabilidade dimensional e sua baixa solubilidade (Bouillaguet *et al.*, 2006; McMichen *et al.*, 2003; Schafer & Zandibi, 2003; Versiani *et al.*, 2006).

Em algumas pesquisas o cimento AH Plus tem demonstrado ter uma boa adaptação à parede dentinária, prevenindo melhor a microinfiltração coronária quando comparado aos cimentos resinosos (Onay *et al.*, 2006; Baumgartner *et al.*, 2007).

2.2.2 Sistema Epiphany / Resilon

Epiphany/Resilon (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, USA) é um sistema de obturação de canais radiculares formada por um cimento resinoso de polimerização dual, de uma resina diluidora, de um primer e de pontas semelhantes à guta-percha, denominadas Resilon, que formam um único bloco no interior do canal radicular (Chivian, 2004, Shipper *et al.*, 2004, Teixeira *et al.*, 2004), com a seguinte composição:

a) Cimento: Epiphany

- BisGMA
- Ethoxylated BisGMA

- UDMA
- Monômeros hidrofílicos

b) Resina diluidora:

- Resinas: UDMA, PEGDMA, EBPADMA, BISGMA com foto iniciador
- Silanos tratados com vidros de bário-borosilicato
- Sulfato de bário
- Sílica
- Hidróxido de cálcio
- Bismuto de óxido clorídrico com aminas
- Peróxidos
- Estabilizadores
- Pigmentos

c) Primer

- Canforoquinona
- Água
- AMPS
- HEMA

d) cone: Resilon

- poliester
- resina difuncional de metacrilato
- vidros bioativos
- oxido clorídrico de bismuto
- sulfato de bário
- pigmento

O sistema Resilon/Epiphany é radiopaco, e em caso de retratamento é solúvel a clorofórmio (Oliveira *et al.*, 2006; Ezzie *et al.*, 2006). Segundo Stratton *et al.*(2006); Shipper *et al.*(2004 e 2005) este sistema é capaz de reduzir a microinfiltração coronária, e promover o fortalecimento da raiz (Teixeira *et al.*, 2004).

O centro deste sistema é um cone formado por uma resina fluida termoplastificável baseada em polímero de poliéster denominada de Resilon, que possui a aparência, a forma e manipulação semelhante à de um cone de gutapercha. Possui um cone principal e acessório em todos tamanhos determinados pela ISO (Organização Internacional de Standardização). Pode ser aplicado utilizando-se tanto a condensação lateral, como a compactação vertical com calor ou a injeção termoplástica (Shipper *et al.*, 2004).

Inúmeras pesquisas têm demonstrado resultados contraditórios do sistema Epiphany/Resilon em relação a sua biocompatibilidade.

Segundo Shipper *et al.* (2004), Souza *et al.* (2006) e com Bodrumlu *et al.* (2006), o sistema além de ser biocompatível, é não-mutagênico e não-citotóxico. Versiani *et al.* (2006) demonstraram que esta biocompatibilidade intra-óssea (Souza *et al.*, 2006) e a baixa taxa de periodontite apical observada clinicamente por Shipper *et al.* (2005), podem estar relacionadas à grande liberação de cálcio (41.46mg L^{-1}) pelo cimento, o que por outro lado está relacionado com sua alta taxa de solubilidade.

Entretanto, Bouillaguet *et al.* (2006), Susini *et al.* (2006), Merdad *et al.* (2007) em suas pesquisas, classificaram o sistema Epiphany de moderado a severamente tóxico.

Bouillaguet *et al.* (2006) relataram em sua pesquisa que o cone de Resilon mostrou citotoxicidade em cultura de células até 72 horas de exposição.

Estes pesquisadores correlacionaram este fato a natureza biodegradável do cone, que tem se mostrado suscetível a hidrólise alcalina e enzimática (Tay *et al.*, 2005).

O Resilon é comercializado na forma de cones e bastões, para o uso do sistema Obtura II (Obtura Spartan, Fenton, MO, USA). Segundo Shipper *et al.* (2004) e Souza *et al.* (2006) possui a seguinte composição: poliéster, resina de metacrilato difuncional, cristais bioativos e materiais radiopacos

O Epiphany é um cimento resinoso de polimerização dual, que possui a seguinte composição: matriz resinosa de BisGMA, BisGMA etóxica, UDMA-Dimetaciloiloxietil 2,2,4 (3,3,5 (-trimetil-hexametilenodicarbamato)) e metacrilatos difuncionais hidrofílicos. Além destes componentes, possui preenchimentos de hidróxido de cálcio, sulfato de bário, cristais de bário, oxi-cloreto de bismuto e sílica.

O cimento Epiphany apresenta alta solubilidade, alteração dimensional e extensa liberação de cálcio, alterando o pH do meio, adicionando ação antimicrobiana (Versiani *et al.*, 2006; Veríssimo *et al.*, 2007).

O *primer* autocondicionante é utilizado para condicionar as paredes do canal e prepará-las para a adesão à resina seladora. O *primer* é introduzido no interior do canal radicular, na quantidade de duas ou três gotas, através de pipeta, seringa ou ponta de papel. O *primer* é composto por monômero sulfônico com terminação ácida, HEMA (2-Hidroxietil Metacrilato), água e iniciador de polimerização.

O *primer* deve ser aplicado após a remoção da *smear layer* promovida pelo uso de EDTA 17%. Isso se faz necessário, pois uma forte adesividade a parede dentinária só é alcançada após a remoção da *smear layer* (Nakabayashi, 1992; Shipper *et al.*, 2004). A utilização deste agente químico na preparação da parede dentinária auxilia no selamento do canal preenchido pelo Resilon.

O HEMA, que é um componente hidrofílico do *primer*, possui a propriedade de escoamento para o interior dos túbulos dentinários, promovendo melhor adesão mecânica e física do sistema e ajuda a prevenir a retração da resina (Shipper *et al.*, 2004; Sagsen *et al.*, 2006).

2.2.3 Cone de Guta-percha

O cone de gutta-percha é o material mais popular e mais utilizado na obturação de canais radiculares, independentemente da técnica utilizada, ou seja, a frio ou termoplastificada (Spangberg & Langeland, 1973; Hauman & Love, 2003), e foi introduzido na Endodontia por Bowman, em 1867 (De Deus, 1992).

A gutta-percha é uma substância vegetal extraída em forma de látex de árvores da família das sapotáceas (*Mimusops balata* e *Mimusops hibern*) existentes principalmente na Sumatra e nas Filipinas; podendo ser encontrada também na floresta amazônica (Leonardo & Leal, 1998). A gutta-percha é apenas

um dos componentes utilizados na composição dos cones/bastões obturadores. Entretanto, estes cones ficaram conhecidos na odontologia como cone de gutapercha, ou simplesmente de gutapercha (Maniglia-Ferreira *et al.*, 2005).

O cone/bastão de gutapercha possui uma grande variação em sua formulação, tendo como componentes, além da gutapercha, óxido de zinco (ZnO), sulfatos metálicos (BaSO₄) e ceras/resinas (Maniglia-Ferreira *et al.*, 2005). Em termos quantitativos os cones são formados por 20% de gutapercha e aproximadamente 77% da massa do cone/bastão é constituída por compostos inorgânicos (óxidos e sulfatos). A percentagem restante é formada por componentes orgânicos e ceras/resinas (Gurgel-Filho *et al.*, 2003; Maniglia-Ferreira *et al.*, 2005).

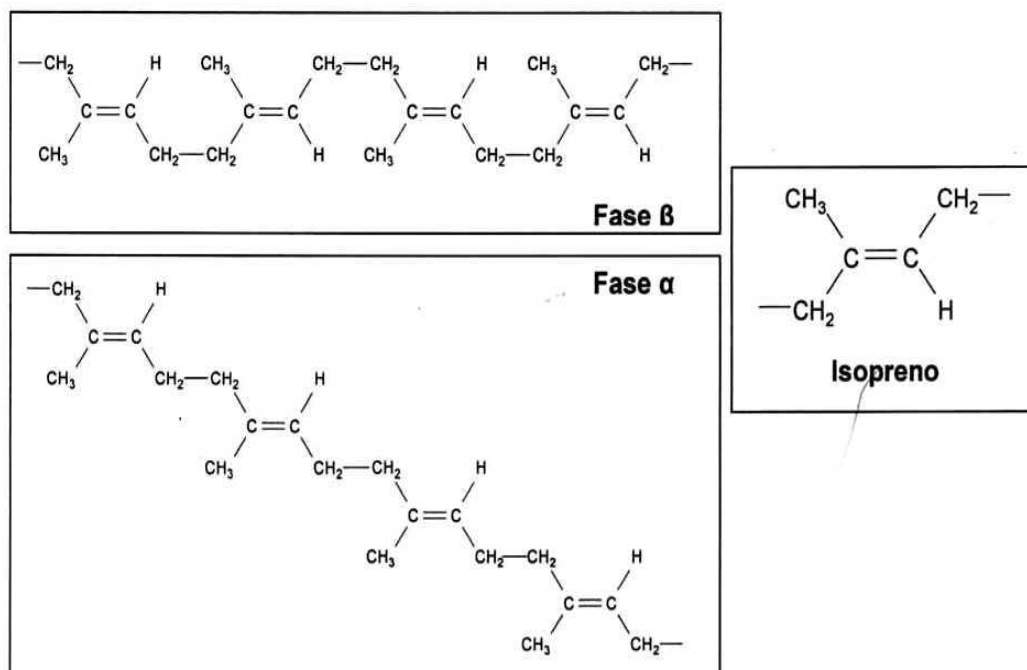
É um isômero trans e existe em duas formas cristalinas: alfa e beta (fig.1), que diferem apenas na distância molecular e na configuração em relação à ligação simples CH₂-CH₂. Quando não-aquecido o material se encontra em uma forma sólida compactável, denominada fase alfa, que é a forma natural do material como ele é extraído da árvore, que apresenta boa adesividade e baixa viscosidade. Na fase beta, o polímero se estabiliza após manipulação com componentes inorgânicos e se mostra rígido e sem propriedade adesiva (Goodman *et al.*, 1974; Schilder *et al.*, 1985).

Os cones de gutapercha, após manipulação com componentes orgânicos e inorgânicos encontram-se na fase beta, que é a forma processada

utilizada na obturação dos canais radiculares (Goodman *et al.*, 1974; Schilder *et al.*, 1985). Além destas fases cristalinas, existe a fase amorfa, onde as cadeias do polímero não estão ordenadas (Schilder *et al.*, 1974).

A alteração de temperatura é a causa de transição do polímero de uma fase para outra, podendo ou não esta alteração ser reversível. Esta temperatura de transição depende diretamente da proporção entre o material amorfo e cristalino, da pureza e massa molar do polímero (Schilder *et al.*, 1974).

Figura 1 – Unidade estrutural do polímero (isopreno) e fases alfa (α) e beta (β) do polímero guta-percha (trans- 1,4 polisopreno).



Os cones de guta-percha possuem as seguintes vantagens: adaptam-se facilmente às irregularidades do canal quando empregadas técnicas de

obturação; são inertes e bem tolerados pelos tecidos periapicais; são radiopacos; por meios físicos são facilmente plastificados; possuem estabilidade dimensional; quando utilizados no limite coronário, não mancham a estrutura dentinária; são dissolvidos por eucaliptol, xilol, clorofórmio e éter e não são solubilizados pelos fluidos orgânicos (Weine, 1996; Gomes *et al.*, 2005). A melhor adaptação do material obturador às paredes dos canais radiculares é conseguida através de técnicas de obturação que utilizem cones de guta-percha aquecidos (Gurgel-Filho *et al.*, 2006).

Como desvantagens os cones de guta-percha possuem: pouca rigidez, sobretudo em numerações baixas; não possuem adesividade adequada; sofrem contração quando aquecidos; e podem ser deslocados por grandes pressões (Goodman *et al.*, 1974; Schilder *et al.*, 1985). O cone de guta-percha sofre oxidação, com alteração de suas propriedades químicas e físicas, quando exposto ao ar e a luz. Como resultado, torna-se ressecado e friável. Devendo, portanto, ser armazenado em um local frio e seco (Oliet & Sorin, 1977; Johansson, 1980).

Os cones de guta-percha estão disponíveis nos calibres convencionais (acessórios) e padrão (padronizados ou estandardizados). Os cones convencionais referem-se às dimensões da ponta e do corpo. Por exemplo, um cone *fine-medium* possui uma ponta fina (*fine*) e um corpo médio (*medium*). Servem para preencher os espaços existentes entre o cone principal e as paredes do canal radicular. Não são estandardizados, sendo mais rígidos e mais cônicos que os estandardizados (Mayne *et al.*, 1971; Goldberg *et al.*, 1979).

Os cones padronizados (standardizados) são projetados para se igualarem à conicidade dos instrumentos de aço inoxidável, portanto ocupam a maior parte do canal radicular.. Entretanto, inúmeras pesquisas têm demonstrado que não existe uniformidade na produção dos cones padronizados, existindo variedade no tamanho dos mesmos (Mayne *et al.*, 1971; Goldberg *et al.*, 1979).

Durante a terapia endodôntica a manutenção da cadeia asséptica é um conceito sempre observado pelos profissionais da área. Entretanto, na fase final da obturação esta cadeia asséptica muitas vezes é quebrada. Cones de guta-percha são usualmente retirados diretamente de suas embalagens e introduzidos no interior do sistema de canais radiculares (Motta *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2005).

Apesar de serem confeccionados dentro de condições assépticas, cones de guta-percha e cones de Resilon podem ser contaminados durante sua manipulação para a retirada da embalagem. Podem também sofrer contaminação durante a sua estocagem ou por aerossóis existentes no consultório (Motta *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2005). Estudos têm demonstrado a contaminação dos cones de guta-percha por vários microrganismos, tais como cocos e fungos (Montgomery, 1971; Linke & Chohayeb, 1983; Gomes *et al.*, 2005).

Devido às características termoplásticas, os cones de guta-percha e Resilon não podem ser esterilizados por processos convencionais de calor seco ou úmido (Gomes *et al.*, 2005; Cohen & Hargreaves, 2007). Entretanto, estudos

recentes têm demonstrado a necessidade de uma rápida desinfecção utilizando substâncias químicas auxiliares com, por exemplo, NaOCl 5,25% e CHX 2% (Gomes *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2007; Cohen & Hargreaves, 2007; Royal *et al.*, 2007).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) foi introduzido na Endodontia somente em 1936 por Walker. Desde então, o NaOCl, em diferentes concentrações, tornou-se a solução auxiliar da instrumentação mais utilizada na terapia endodôntica (Siqueira, 1997).

O NaOCl apresenta excelente atividade antimicrobiana frente à microbiota endodôntica e na desinfecção de lençol de borracha e cones de gutapercha e Resilon (Gomes *et al.*, 2001; Ferraz *et al.*, 2001; Hauman & Love, 2003; Vianna *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2005). Sua ação antimicrobiana está relacionada com a formação de compostos contendo cloro ativo, como o ácido hipocloroso e o íon hipoclorito (Lopes & Siqueira, 1999; Vianna *et al.*, 2002).

O NaOCl é um potente agente oxidante capaz de causar alterações na superfície dos cones: Valois *et al.* (2005) ao analisar essas alterações, através da microscopia de força atômica, concluíram que após 1 minuto de contato com o NaOCl 5.25% houve alteração na elasticidade dos cones, e após 10 minutos houve deterioração da superfície. Yamauti *et al.* (2003) e Yokoyama *et al.* (2004) também encontraram alterações nas superfícies dos cones quando em contato com o NaOCl. Além destas alterações, mesmo após rápida desinfecção com

hipoclorito de sódio nas concentrações de 2.5% e 5.25%, Short *et al.*, (2003) encontraram na superfície dos cones a formação de cristais de cloreto.

A clorexidina tem sido utilizada na endodontia como substância química auxiliar (Gomes *et al.*, 2001; Ferraz *et al.*, 2001 e 2007), medicação intracanal (Gomes *et al.*, 2001, 2003, 2007; Zamany *et al.*, 2003) e também na desinfecção de cones de guta-percha (Gomes *et al.*, 2005). A clorexidina é efetiva contra um grande número de microrganismos, (Ferraz *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2001, 2003; Vianna *et al.*, 2004) e tem baixa citotoxicidade (Tanomaru *et al.*, 2002).

Devido às suas características catiônicas e sua capacidade de adsorção aos componentes minerais da dentina, a clorexidina pode se unir aos componentes inorgânicos existentes nos cones (White *et al.*, 1997; Tay *et al.*, 2005).

Estudos têm demonstrado que ela possui efeito inibitório nas bactérias comumente encontradas nas infecções endodônticas, através da ligação com a parede celular microbiana, alterando o equilíbrio osmótico. Em baixas concentrações, substâncias de baixo peso molecular, como fósforo e potássio, tendem a migrar para fora da célula (Fardal & Turnbull, 1986). Em maior concentração, ocorre a precipitação do conteúdo citoplasmático da célula resultando na sua morte (Fardal & Turnbull, 1986; Cervone *et al.*, 1990).

Ischi *et al.* (2006) relataram em sua pesquisa que a clorexidina na concentração de 2% apresentaram alterações físicas na superfície dos cones de Resilon após 5 minutos de contato.

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente estudo foram:

- a)** Estudar a atividade antimicrobiana dos cimentos AH Plus e do Sistema Epiphany através do método de Contato Direto e da difusão em Agar.
- b)** Avaliar *in vitro* a microinfiltração coronária em dentes obturados com o cimento AH Plus/guta-pecha e o Sistema Epiphany/Resilon.
- c)** Avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana residual do hipoclorito de sódio 5.25% e clorexidina gel 2% após descontaminação dos cones de gutta-percha e Resilon.
- d)** Avaliar em MEV superfície do cone de gutta-percha e Resilon quando expostos ao hipoclorito de sódio 5.25% e à clorexidina gel 2%.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS AH PLUS, EPIPHANY E PRIMER ATRAVÉS DO MÉTODO DE CONTATO DIRETO EM MEIO LÍQUIDO, PELA OBSERVAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO, E DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR.

4.1.1 Preparo da suspensão bacteriana

Para a padronização do inóculo foi utilizada a metodologia empregada por Koo *et al.* (2000).

Culturas puras de *E. faecalis* (ATCC 29.212), *A. naeslundii* (M104), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *C. albicans* (NTCC 3736), em caldo de Brain Heart Infusion Broth (BHI), foram subcultivadas em placas de Brain Heart Infusion Agar (BHIA) + 5% de sangue de carneiro desfibrinado (EBEFARMA, Araras, SP) e incubadas por 24/48 horas a 37°C em atmosfera de O₂ para *C.albicans* e 10% de CO₂ para os demais microrganismos.

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas de cada microrganismo foram suspensas em tubos contendo 5 mL de BHI. Após agitação mecânica em vórtex, a suspensão era ajustada no espectrofotômetro com absorbância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 (transmitância 90) da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC).

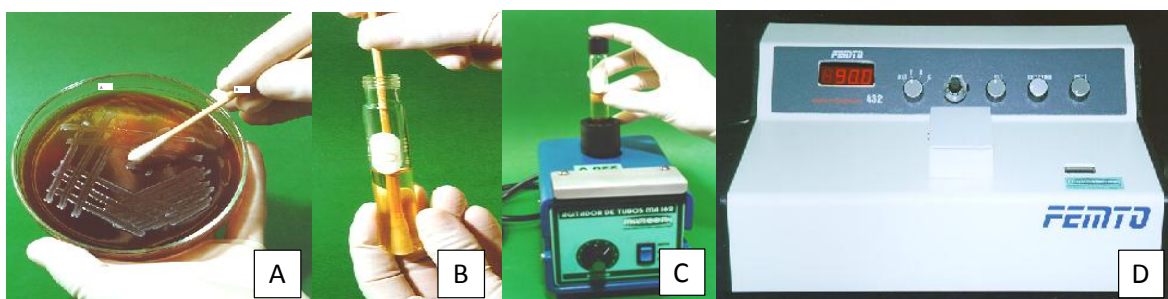


Figura 2 – Preparo do inóculo: A - Cultura pura de microrganismo; B - Suspensão bacteriana; C - Agitação em vórtex; D - Padronização da suspensão microbiana (McFarland 0,5).

4.1.2 Método de Contato Direto

4.1.2.1 Preparo dos cimentos

O cimento AH Plus (Dentsply Brasil, Petrópolis, RJ, Brasil) e o Sistema de obturação Epiphany (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, USA) foram preparados de acordo com a recomendação do fabricante. Para se obter o mesmo volume de cimento, foi utilizado placa de silicone contendo perfurações de 5 mm de diâmetro por 4 mm de altura, onde após a espatulação os cimentos foram inseridos e armazenados até o momento de sua utilização. A quantidade de cimento em cada perfuração equivaleu a 0,2 mL (200µL) (Pedroso 2003).

Seringas estéreis de 3 mL, sem o uso da agulha, foram utilizadas na introdução de 0,2 mL (200 µL) do cimento testado e do Primer no tempo imediato nos tubos contendo o inóculo bacteriano.

Os cimentos foram todos manipulados e mantidos nas placas de silicone, no interior da cabine de anaerobiose (Don Whitley Scientific, Bradford,

UK), à temperatura de 37°C, em atmosfera de 10% de H₂, 10% de CO₂, 80% de N₂, até a realização da leitura no espectrofotômetro.

4.1.2.2. Leitura da curva de crescimento microbiano e dissolução do cimento em BHI caldo

Os frascos que continham o conjunto BHI caldo + inóculo + cimento, BHI + inóculo e BHI + cimento foram agitados em vórtex e feitas leituras no espectrofotômetro de hora em hora, até a 18^a hora. Nos intervalos de leitura, o conjunto foi mantido em condições gasosas específicas.

O valor de transmitância na escala de Mc Farland 0,5 equivale a 90. Quanto maior o valor de transmitância, maior é a passagem de luz. Por conseguinte, menor crescimento microbiano, ou seja, maior atividade antimicrobiana.

4.1.2.3 Confirmação do crescimento microbiano

Foram retiradas alíquotas de 25 µL dos frascos após cada leitura em espectrofotômetro e plaqueadas em BHI Agar contendo 5% de sangue de carneiro

desfibrinado. As placas foram incubadas por 24 h, a 37°C em estufa de O₂, para permitir o crescimento de *C. albicans*; por 48 h em estufa de CO₂ crescimento dos demais microrganismos. O número de unidade colônias formadas (UFC) foi calculado. O trabalho foi realizado em triplicata.

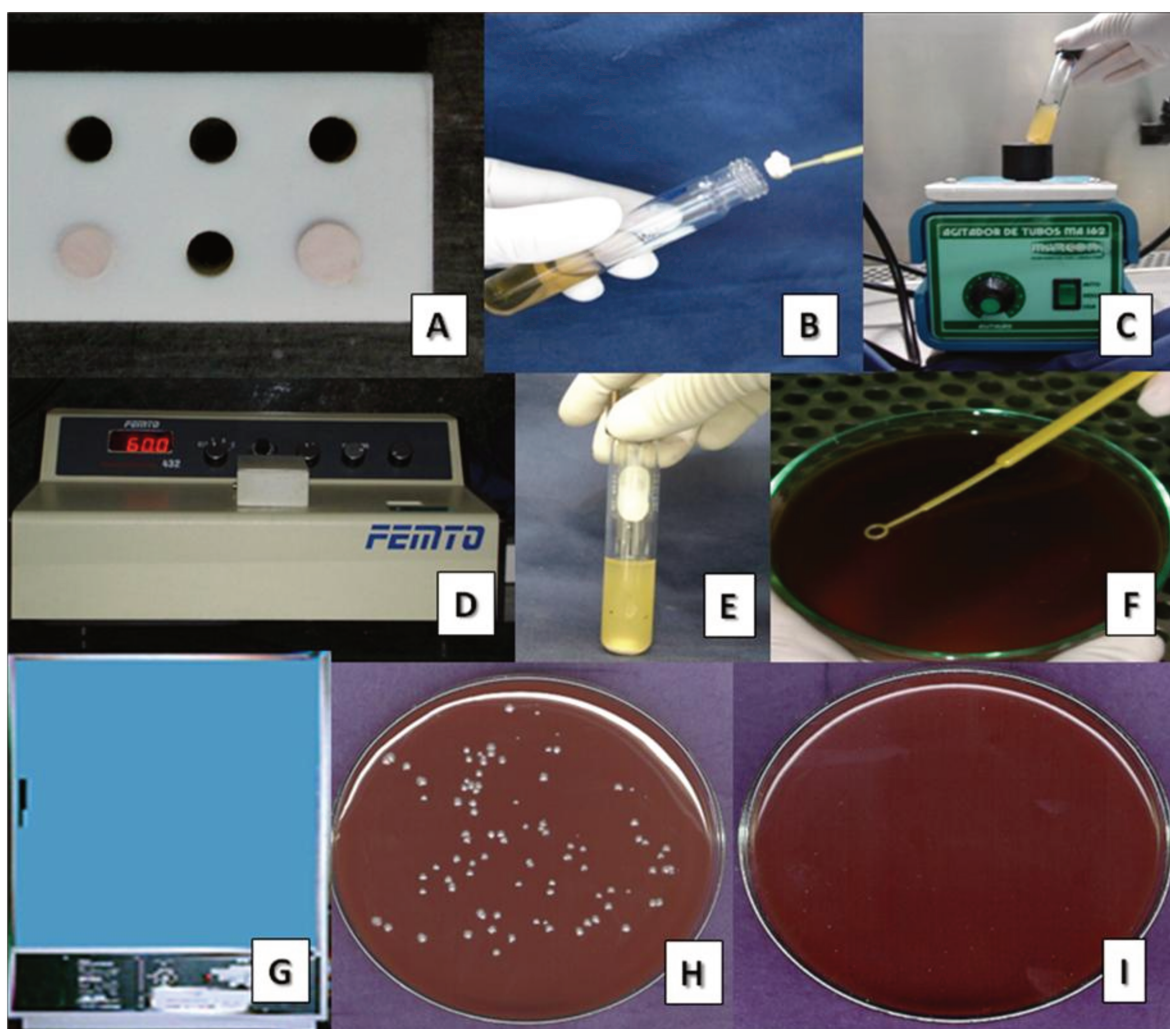


Figura 3 – Método contato direto: A - Espatulação do cimento (imediato, 24, 48 horas e 7 dias); B - Cimento mais inóculo; C - Agitação em vórtex; D -

Leitura de hora em hora até 18° h; E e F – Retirada de 25 µL e plaqueamento sobre placa de BHI Agar; G - Incubação; H e I – Leitura.

4.1.3 Método de Difusão em Agar

4.1.3.1 Preparo das camadas de Agar

Para a avaliação da atividade antimicrobiana das substâncias testadas frente aos microrganismos, foi utilizada a metodologia da camada dupla. Os testes foram realizados em triplicata em tempos diferentes.

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

Quarenta mL de BHI-Agar foram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, quando BHI Agar atingiu 45°C, foi adicionado 400 µL do inóculo bacteriano e então

agitado para a homogenização do conjunto. O meio de cultura passou a ter 1% de inóculo bacteriano, que foi distribuído sobre a camada sólida de MHA. Foi aguardada a solidificação do meio de cultura.

4.1.3.2 Preparo dos cimentos

Os cimentos endodônticos foram espatulados em placas de vidro com espátula de aço inoxidável nº24 estéril, conforme recomendação dos fabricantes:

- a) **AH Plus:** proporções iguais: pastas A e B; e,
- b) **Sistema Epiphany:** proporções iguais: pastas A e B (recomendação do fabricante)

Os cimentos foram espatulados nos períodos imediato, 24 h, 48 h, 7 e 14 dias anterior a realização do teste, por 40 a 60 segundos até obter a homogenização. 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 e colocados por sobre placas de vidro. Com exceção dos cimentos que foram utilizados no tempo imediato, os demais foram mantidos em câmara de anaerobiose até o momento do experimento.

O Primer foi colocado no interior dos tubos de inox no período imediato, 24h, 48h, 7 e 14 dias anterior a realização do teste, preenchendo-os em altura e diâmetro e sendo mantido no interior da câmara de anaerobiose.

4.1.3.3 Colocação dos tubos de inox sobre a superfície do Agar

Após a solidificação dos meios de cultura, os cilindros de inox contendo os cimentos e o Primer testados no tempo: imediato, 24h, 48, 7 e 14 dias após espatulação eram dispostos sobre a superfície do Agar. Foram colocados 6 cilindros (3 para cada tempo de espatulação), em cada meio de cultura. As placas foram mantidas por 2 h à temperatura ambiente para permitir a difusão dos cimentos na superfície do BHIA.

4.1.3.4 Incubação

As placas foram mantidas a 37°C em atmosfera de O₂ para *C. albicans* e 10% de CO₂ para *Actinomyces naeslundii*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* por 24/48 horas.

4.1.3.5 Leitura dos halos de inibição

As leituras dos halos de inibição foram feitas após o período de incubação específico para cada microrganismo: 24 horas para a *Candida albicans* e 48 horas para *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii* e *Enterococcus faecalis*.

Os raios das zonas de inibição microbiana corresponderam a menor distância entre a superfície externa do cilindro e o início da região de crescimento microbiano, os quais eram medidos com auxílio de paquímetro milimetrado.

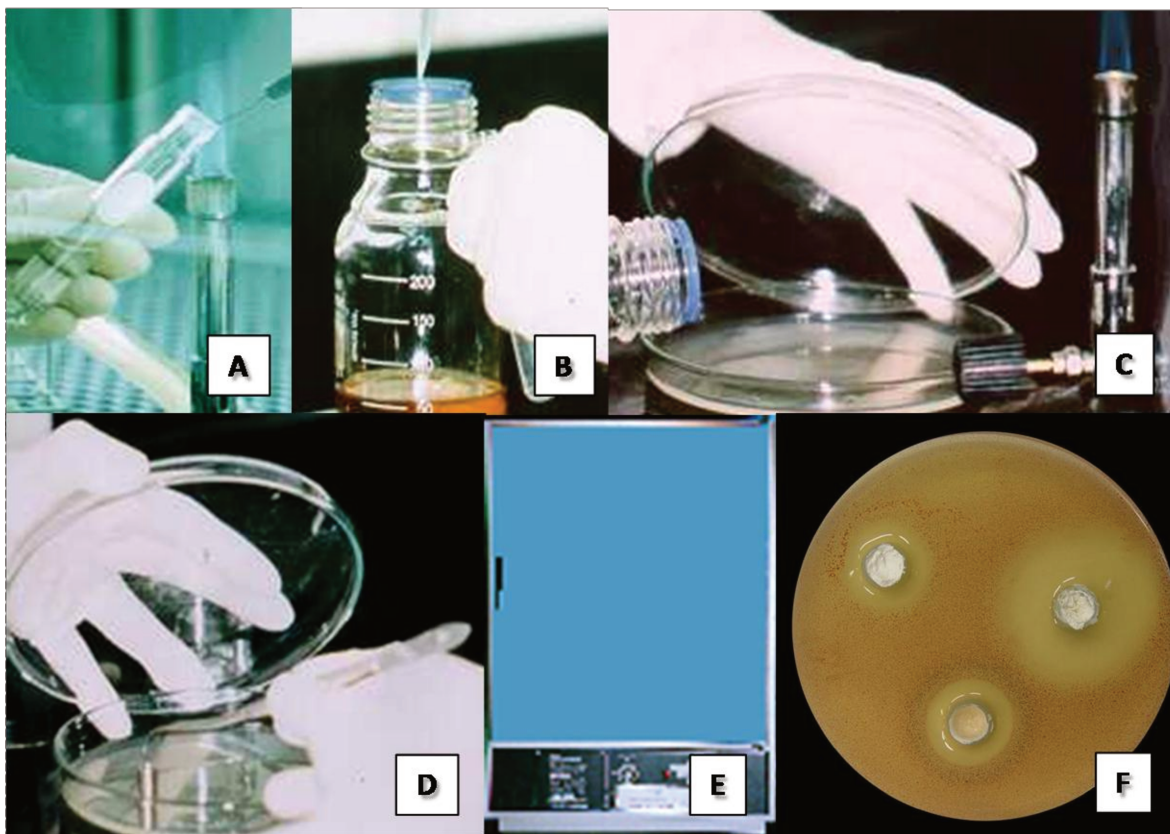


Figura 4 – Método da difusão em agar: A e B - Padronização da suspensão microbiana; C - Semeadura em profundidade (1:100); D - Posicionamento do cilindro de aço inox com cimento; E - Incubação; F - Leitura do halo.

4.2 MICROINFILTRAÇÃO CORONÁRIA

4.2.1 Preparo dos dentes

Foram selecionados 50 pré-molares inferiores, com ápices completos, raízes retas e canais únicos, extraídos por problemas periodontais ou indicação ortodôntica. A utilização destes dentes foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisas em humanos da faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP. Os restos de tecido periodontal ou ósseo que, por ventura, estavam aderidos às superfícies radiculares foram removidos com o auxílio de curetas periodontais. As coroas dentais foram removidas com disco de carborundum (KG Sorensen Ind. Com. Ltda., Barueri, SP, Brasil). As raízes foram padronizadas no comprimento de 15 milímetros.

4.2.2 Instrumentação e obturação dos dentes

A exploração inicial dos canais foi feita com a lima tipo K #10 na altura do forame apical. Durante este preparo, 1,0 ml de soro fisiológico estéril foi utilizado como irrigante a cada troca de lima. O acesso cervical dos dentes foi realizado com limas HERO *tip* 20, taper 0.06; penetrando no máximo 5 mm aquém do ápice. Em seguida, as brocas de Gates-Glidden (GG) (Dyna-FFDM Endodontic Instruments,

Bourges, França) # 5, # 4, # 3, # 2, foram utilizadas em intervalos de aproximadamente 2,0 mm aquém do comprimento total da raiz (15 mm). Posteriormente, o ombro apical foi confeccionado com lima manual tipo K progressivamente até a lima # 35 1 mm aquém do forame apical. Em seqüência, o *step – back* com recuo programado em intervalos de 1,0 mm até a lima # 50 foi realizado. A patência apical foi confirmada durante todo o preparo usando lima K# 10.

A cada troca de broca ou lima o canal foi irrigado com 1mL de soro fisiológico através de seringas descartáveis de 5mL (Becton-Dickinson-BD, Curitiba, PR, Brasil) e agulha descartável 20 X 0,55mm (Becton-Dickinson). Após o término do preparo, o canal foi irrigado com 3mL de EDTA 17% mantendo o canal inundado por 3 minutos para a remoção do “smear layer”. A irrigação final foi realizada com 3 mL de soro fisiológico, aspirados e secos com cones de papel absorvente (Dentsply Brasil, Petrópolis, RJ, Br).

Os dentes foram divididos em dois grupos de 15 dentes cada e dois grupos controle de 10 dentes:

- a) Grupo 1. Foi utilizado o cimento AH Plus (Dentsply Brasil) em conjunto com o cone de guta-percha (Dentsply Brasil) sendo aplicada a técnica de condensação lateral. Após a seleção do cone de guta-percha principal “Fine Medium” adaptando a ponta no diâmetro correspondente a lima K# 40 em régua calibradora

Maillefer, o cimento obturador foi manipulado de acordo com as recomendações do fabricante levado ao interior do canal radicular através de broca lentulo (Dentsply Brasil) em seguida, o cone de guta-percha foi imerso no cimento e assentado no batente apical. A obturação dos espaços durante a condensação lateral foi realizada com espaçadores digitais nº25 e 30 (Dentsply Brasil) para a colocação dos cones acessórios “Fine” (Dentsply Brasil). A penetração foi realizada sempre na face vestibular, 2mm aquém do comprimento de trabalho. Os cones foram cortados com condensadores de Paiva aquecido e em seguida a condensação vertical foi feita com condensador frio.

Grupo 2. Foi utilizado o sistema Epiphany/Resilon, que é composto pelo cimento Epiphany, pelo cone Resilon e pelo Primer, sendo aplicada a técnica de condensação lateral como descrita no grupo 1. Após a instrumentação o primer foi colocado no interior do canal com uma agulha fina. Excesso do primer foi retirado com cones de papel absorvente (Dentsply Brasil). Os canais foram obturados com o cone principal “Fine Medium” (Pentron Clinical Technologies), adaptando a ponta no diâmetro correspondente

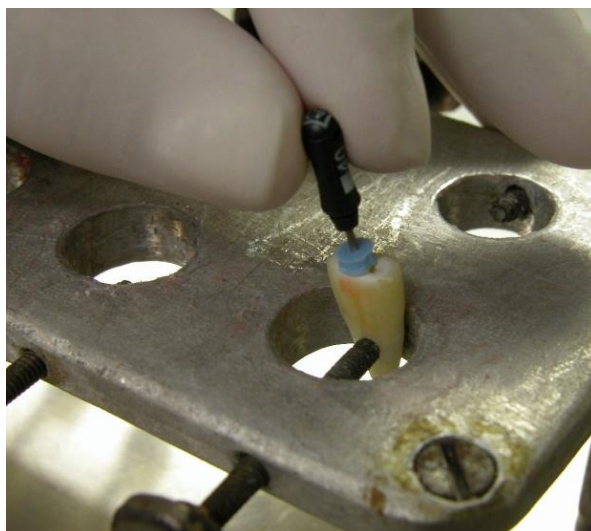


Figura 5 – Mesa para instrumentação.

Ao término da obturação, os dentes foram envolvidos em gazes umedecidas e mantidos no interior de placas de cultura estéreis tampadas, colocadas na câmara de anaerobiose, na temperatura de 37°C, num período de 14 dias para permitir a presa do cimento.

Após este período, já na câmara de fluxo laminar, os dentes foram pintados com esmalte na cor vermelha (Colorama, Procosa Produtos de Beleza Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Para o estudo da microinfiltração coronária, um modelo similar ao de Gomes *et al.* (2003) foi utilizado. Os aparatos eram compostos por frascos de vidro acoplados a "stoppers" (tampas) de borracha. Acima destes foram adaptados cilindros de seringas plásticas de 10 mL devidamente preparados, de modo que se ajustassem à superfície externa dos "stoppers",

criando uma câmara para depósito do inóculo bacteriano. Uma peça de mão de alta rotação foi utilizada para a confecção de orifícios circulares no centro dos "stoppers" de borracha (Torabinejad *et al.*, 1990). Nesta abertura os dentes foram inseridos, pressionando-os até a junção cimento-esmalte de modo que a porção coronária estivesse em contato com o interior do frasco. A interface dente-stopper foi selada com cimento de cianocrilato (Super Bonder; Loctite, Itapevi, SP, Brasil) (Imura *et al.*, 1997).

O conjunto constituído de dente + stopper de borracha + seringas e os frascos utilizados para a colocação do BHI caldo foram enviados para esterilização em óxido de etileno (Embrarad, Cotia, SP, Brasil). Ao retornarem, na câmara de fluxo laminar, foi adicionado BHI caldo estéril no interior dos frascos e a seguir o conjunto dente + stopper de borracha + seringa acoplado ao frasco, ocorrendo a imersão das raízes no BHI. Na interface entre o frasco e o "stopper" foi colocado um filme de parafina (Parafilm® M, Marienfeld Laboratory Glassware, Lauda-Königshofen, Germany). Com o auxílio de uma pipeta, foi colocado 1mL de azul de metileno no interior dos "stoppers" para verificar se o vedamento na interface dente-stopper foi eficiente (Malone III & Donnelly, 1997). Os aparatos foram incubados a 37°C por 4 dias para assegurar a esterilização.

Após este período, o azul de metileno foi aspirado com ponteiros de plástico estéreis de 200 µL, o interior da seringa irrigado com soro fisiológico estéril para remoção de qualquer traço de azul de metileno e novamente o

conteúdo aspirado com as ponteiros. Foi então depositado no interior da seringa 1,5 mL do inóculo bacteriano. Este foi feito a partir de culturas puras de *E. faecalis* (ATCC 29.212), que após crescimento em meio sólido foram suspensas em tubos contendo 5 mL de BHI estéril. Após agitação mecânica em vórtex, a suspensão foi ajustada no espectrofotômetro com absorbância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 para aeróbios e anaeróbios facultativos (transmitância 90) da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC).

O conjunto foi incubado a 37°C em câmara de CO₂ e o turvamento do meio foi verificado diariamente, por 90 dias, com posterior plaqueamento para confirmação da presença do *E. faecalis*. A constatação do crescimento bacteriano durante o período de incubação deu-se pela presença de turbidez do meio. Alíquotas de 100 µL do frasco com crescimento positivo foram plaqueadas em placas de petri contendo BHI Agar com a adição de 5% de sangue de carneiro desfibrinado, que foram incubadas na estufa de CO₂ por 48 horas . A pureza das culturas foi observada através da morfologia das colônias plaqueadas em BHI ágar-sangue e a confirmação foi realizada utilizando-se teste de coloração de Gram, teste de Catalase e método bioquímico de identificação bacteriana (Api 20 Strep, bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, França).

No final do período de 90 dias de observação foram coletadas alíquotas de 100µL de todos os frascos que não apresentaram turbidez do meio de cultura, as quais foram plaqueadas em placas de petri contendo BHI Agar com a adição de

5% de sangue de carneiro desfibrinado, que foram incubadas em estufa de CO₂ a 37°C por 48 horas, para a comprovação da ausência de crescimento microbiano.



Figura 6 – Infiltração coronária: A - Padronização dos dentes (15 mm); B e C- Instrumentação; D - Prova do cone; E, F e G – Espatulação do cimento; H e I - Obturação; J - Incubação por 14 dias; K – Colocação de azul de metileno; L - 1,5 mL de inóculo bacteriano; M - Observação do turvamento (90 dias).

4.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA RESIDUAL DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES NA DESINFECÇÃO DE CONES ATRAVÉS DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR.

4.3.1 Preparo dos cones

Duzentos e setenta cones medium (135 cones de guta-percha: Dentsply Brasil, Petrópolis, RJ, Brasil) e 135 - Resilon® (Resilon Research LLC, Madison CP, USA), previamente esterilizados por óxido de etileno (Embrarad, Cotia, SP, Brazil) foram selecionados.

Os cones das marcas selecionadas foram divididas em três grupos, de acordo com o tipo de substância a ser testada (5.25%NaOCl, 2%CHX gel, solução salina estéril) e o tempo de exposição em cada substância:

- a) Grupo 1: 9 cones foram imersos em 1mL de 2.0% CHX gel por 1 min, 9 cones por 5 min, 9 por 10 min, 9 por 20 min e 9 cones por 30 min.
- b) Grupo 2: 9 cones foram imersos em 1mLde 5.25% NaOCl por 1 min, 9 cones por 5 min, 9 por 10 min, 9 por 20 min e 9 cones por 30 min.

- c) Grupo 3: 9 cones foram imersos em 1mL de solução salina estéril por 1 min, 9 cones por 5 min, 9 por 10 min, 9 por 20 min e 9 cones por 30 min.

Todas as substâncias testadas possuíam alto grau de pureza e eram preparadas 24 horas antes do experimento, sempre em porções pequenas. Todas as substâncias foram manipuladas pelo o mesmo fabricante (Proderma, Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP, Brasil).

Após serem removidos das substâncias testadas, os cones eram transferidos individualmente para frascos contendo 1 mL de solução salina estéril, agitados em vórtex por 1 min. Este procedimento foi realizado 3 vezes para a retirada total das substâncias testadas da superfície dos cones. Os cones eram secos com gazes estéreis.

4.3.2 Preparo do inóculo

Para a padronização do inóculo foi utilizada a metodologia empregada por Koo *et al.* (2000) e Gomes *et al* (2004).

Culturas puras de *E. faecalis* (ATCC 29.212), em caldo de Brain Heart Infusion Broth (BHI), foram subcultivados em placas de Brain Heart Infusion Agar (BHIA) + 5% de sangue de carneiro desfibrinado (Ebefarma, Araras, SP, Brasil) e incubado por 24/48 horas a 37°C em atmosfera de 10% de CO₂. Culturas puras de

P. gingivalis (isolados clinicamente dos canais radiculares e armazenados em freezer -70) em caldo de Fastidious Anaerobe Broth (FAB), foram subcultivadas em placas de Fastidious Anaerobe Agar (FAA) + 5% de sangue de carneiro desfibrinado e incubadas a 37°C em câmara de anaerobiose (Don Whitley Scientific, Bradford, UK) em atmosfera de 80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂ por 48 horas.

Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas de cada bactéria eram suspensas em tubos contendo 5 mL de solução salina estéril a 0.85% para anaeróbios facultativos . Após agitação mecânica em vórtex, a suspensão foi ajustada no espectrofotômetro com absorbância de 800 nm, até atingir a concentração equivalente a 0.5 para anaeróbio facultativo (transmitância 90) da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC). Para o anaeróbio estrito, o inóculo foi ajustado no espectrofotômetro com a concentração equivalente a 1.0 (transmitância 80) da escala de McFarland ($3,0 \times 10^8$ UFC). Swabs estéreis eram imersos dentro da suspensão bacteriana e inoculados em placas pré-reduzidas, contendo 700 mm de FAA + 5% de sangue de carneiro.

4.3.3 Preparo da camada de Agar

Os testes foram realizados em triplicata em tempos diferentes. Inicialmente foram preparadas as placas contendo 40 mL de Muller-Hinton Agar (MHA) que serviram de base para a camada de inóculo (seed), para o microrganismo facultativo.

Cinquenta microlitros de BHI Agar foram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, foi adicionado 500 µL do inóculo bacteriano e então o conjunto agitado para a unificação do conjunto. O meio de cultura passará a ter 1% de inóculo bacteriano, que foi distribuído sobre a camada sólida de MHA. Foi aguardada a solidificação do meio de cultura.

Para o anaeróbio estrito, swabs estéreis foram imersos dentro da suspensão bacteriana e inoculados em placas pré-reduzidas, contendo 700 mm de FAA + 5% de sangue de carneiro. Este procedimento utilizado é apropriado para promoverem o crescimento adequado para a realização do teste.

Após a secagem os cones foram dispostos sobre a superfície do meio. As placas foram deixadas por duas horas em temperatura ambiente para permitir a difusão dos agentes na superfície do Agar.

4.3.4 Incubação

As placas foram mantidas a 37°C em atmosfera 10% de CO₂ para o facultativo por 24-48 horas (Jouan, Saint Herblain, France). As placas de anaeróbio estrito foram incubados a 37°C em câmara de anaerobiose (Don Whitley Scientific, Bradford, UK) em atmosfera de 80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂ por 48 horas.

4.3.5 Leitura dos halos

A leitura foi feita após 48 horas para as placas que continham *E. faecalis* e 7 dias para *P. gingivalis*. Os raios das zonas de inibição microbiana corresponderam a menor distância entre a margem externa do cone e o início da região de crescimento microbiano, os quais foram medidos com auxílio de paquímetro milimetrado.

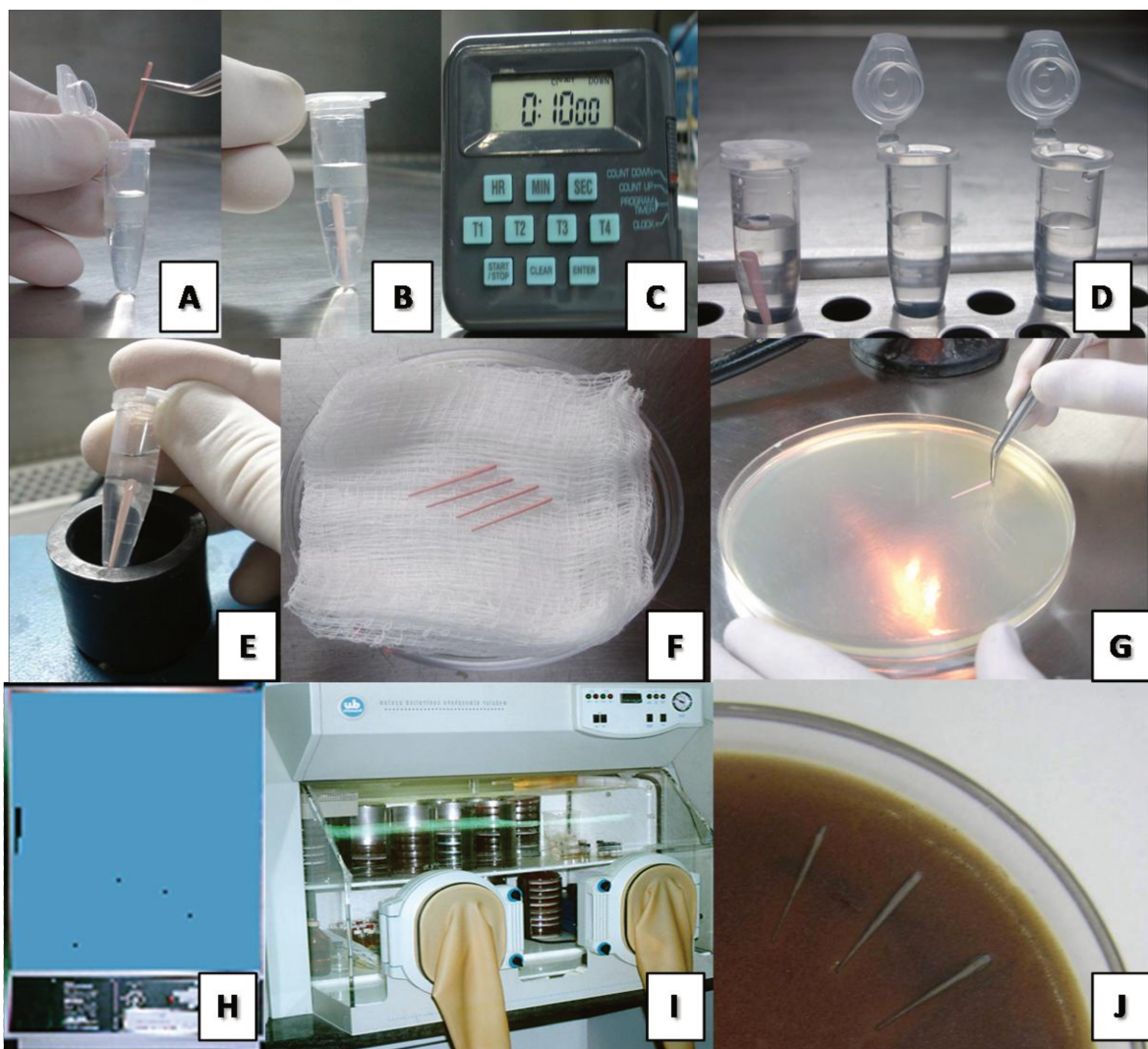


Figura 7 – Atividade antimicrobiana residual: A - Imersão do cone na substância química; B e C - Tempo de imersão (1', 5', 10', 20' e 30'); D -Lavagem em soro estéril; E - Agitação em vórtex (1'); F - Secagem; G - Posicionamento sobre a placa de Agar; H e I - Incubação; J - Leitura dos halos.

4.4 AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DA SUPERFÍCIE DOS CONES EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)

4.4.1 Preparo dos cones

Duzentos e oitenta e oito cones medium foram seccionados em três partes (144 cones de guta-percha - Dentsply® Brasil, Petrópolis, RJ, Brasil) e 144- Resilon® Resilon research LLC, Madison, CP, USA), previamente esterilizados por óxido de etileno (Embrarad, Cotia, SP, Brasil) foram selecionados.

Os cones das marcas selecionadas foram divididas em três grupos, de acordo com o tipo de substância testada (NaOCl 5.25%, CHX gel 2%, solução salina estéril) e o tempo de exposição em cada substância:

- a) Grupo 1: 9 cones foram imersos em 1mL de CHX gel 2.0% por 1 min, 9 cones por 5 min, 9 por 10 min, 9 por 20 min e 9 cones por 30 min.
- b) Grupo 2: 9 cones foram imersos em 1mL de NaOCl 5.25% por 1 min, 9 cones por 5 min, 9 por 10 min, 9 por 20 min e 9 cones por 30 min.
- c) Grupo 3: 18 cones (9 – Konne e 9 – Resilon) não foram imersos nas soluções (grupo controle).

Todas as substâncias testadas possuíam alto grau de pureza e foram preparadas 24 horas antes do experimento, sempre em porções pequenas. Todas as substâncias foram manipuladas pelo o mesmo fabricante (Proderma, Farmácia de Manipulação, Piracicaba, SP, Brasil).

Após serem removidos das substâncias testadas, os cones foram transferidos individualmente para frascos contendo 1mL de solução salina estéril, agitados em vórtex por 1 min. Este procedimento foi realizado 3 vezes para a retirada total das substâncias testadas da superfície dos cones. Os cones foram secos com gases estéreis.

4.4.2. Preparo dos cones para análise no MEV

Os cones foram montados individualmente em “stubs”, cobertos por ouro (Dentum Vacuum Desk 2, Buffalo, NJ, USA) e sua superfície era analisada no MEV (JEOL, JSM5600 LVB, Tokio, Japão) para observar possíveis alterações na superfície, de acordo com o tempo de contato com as substâncias químicas auxiliares testadas.

Fotografias foram retiradas com ampliação de 1.500X de três áreas representativas: no diâmetro mais amplo do cone, no diâmetro intermediário e no diâmetro mais fino. Essas imagens foram analisadas por três avaliadores.

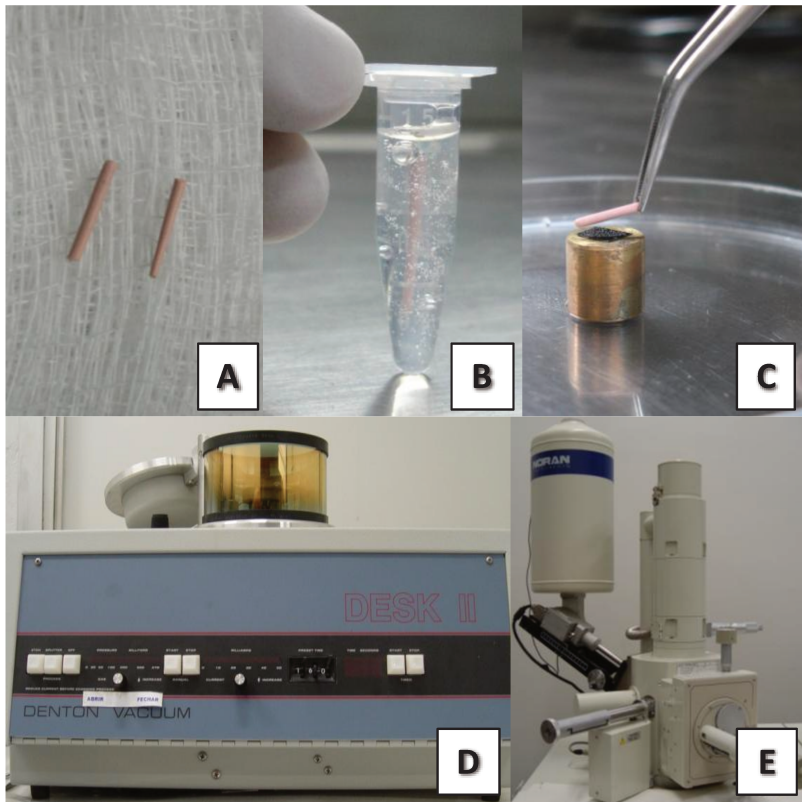


Figura 8 – Análise em MEV: A - Cones seccionados; B - Cone imerso na substância química; C - Posicionamento no “stub”; D - Banho de ouro; E - Leitura no MEV.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS AH PLUS, EPIPHANY E PRIMER

1.1 Método de Contato Direto

A amostra foi avaliada pela ANOVA de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$), com Pós-teste de Dunn, com p-valor de normalidade altamente significativa.

1.2 Método de Difusão em Agar

A análise de variância (ANOVA) de Kruskal-Wallis foi utilizada para determinar a diferença da susceptibilidade das espécies microbianas frente aos cimentos testados.

2 MICROINFILTRAÇÃO CORONÁRIA

O Teste Exato de Fisher foi utilizado na análise dos dados por serem duas amostras independentes, uma variável e dados categóricos.

3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA RESIDUAL DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES NA DESINFECÇÃO DE CONES

Foi realizada estatística descritiva

4 AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DA SUPERFÍCIE DOS CONES EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)

Foi realizada estatística descritiva.

5 RESULTADOS

5.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS AH PLUS, EPIPHANY E PRIMER ATRAVÉS DO MÉTODO DE CONTATO DIRETO EM MEIO LÍQUIDO, PELA OBSERVAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO, E DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR.

5.1.1 Método de contato direto

O valor de transmitância (T) do padrão Mc Farland 0,5 equivale a 90. Quanto maior o valor de transmitância, maior é a passagem de luz e menor o crescimento microbiano. Consequentemente, maior a atividade antimicrobiana.

Valores de transmitância dos cimentos testados frente aos microrganismos nos variados tempos após a espatulação.

O cimento AH Plus apresentou as maiores médias de transmitância (47.6315 ± 15.577) frente aos microrganismos em todos os tempos após a espatulação (imediato 24 h, 48 h, 7 dias e 14 dias), quando comparado com o cimento Epiphany, com diferença estatística ($p < 0.05$) (Tab 1).

O cimento AH Plus apresentou os menores valores de “T” no tempo imediato frente a todos os microrganismos testados, exceto frente o *S. aureus*,

que foi menor no tempo de 7 dias. As maiores médias de “T” foram no tempo de 24 hs para os microrganismos *C. albicans*, *A. naeslundii*, e 14 dias para o *E. faecalis*.

Para o Epiphany, os menores valores de “T” foi no tempo imediato para *C. albicans* e *S. aureus*, 24 hs para *A. naeslundii* e 7 dias para *E. faecalis*. As maiores médias foram no tempo imediato para *A. naeslundii*, 48 hs para *E. faecalis* e *C. albicans* e 24 hs para *S. aureus*.

Tabela 1 – Média dos valores de transmitância dos cimentos testados frente aos microrganismos nos variados tempos após a espatulação.

Microrganismo	Tempo Após Espatulação	AH Plus	Epiphany
<i>A. naeslundii</i>	Imediato	13.29 a	3.03 b
	24 horas	80.86 a	2.59 b
	48 horas	80.64 a	2.83 b
	7 dias	42.32 a	2.81 b
	14 dias	80.06 a	2.83 b
<i>E. faecalis</i>	Imediato	21.95 a	2.75 b
	24 horas	24.11 a	2.59 b
	48 horas	20.53 a	4.49 b
	7 dias	32.48 a	2.35 b
	14 dias	86.53 a	2.45 b
<i>C. albicans</i>	Imediato	51.19 a	2.30 b
	24 horas	57.44 a	3.05 b
	48 horas	54.20 a	4.23 b
	7 dias	53.81 a	3.01 b
	14 dias	55.75 a	2.50 b
<i>S. aureus</i>	Imediato	30.28 a	2.17 b
	24 horas	85.60 a	33.99 b
	48 horas	27.05 a	15.85 b
	7 dias	26.62 a	13.41 b
	14 dias	27.92 a	17.04 b

Letras desiguais em uma mesma linha demonstram diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%; valores de T próximos a 100 indicam menor crescimento microbiano.

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

Valores de transmitância dos cimentos frente a todos os microrganismos testados

O *E. faecalis* (19.023) demonstrou ser o microrganismo mais resistente, seguido de *S. aureus* (27.993) e *C. candida* (28.748). O microrganismo mais sensível foi o *A. naeslundii* (31.079), apresentando diferença estatística ($p < 0.05$) (Tab. 2).

Tabela 2 – Média e desvio padrão dos valores de transmitância dos cimentos frente a todos os microrganismos testados.

	Cimento AH Plus		Cimento Epiphany		M1
	Média	dp	Média	dp	
<i>A. naeslundii</i>	59.434	8.218	2.818	1.584	31.079 a
<i>E. faecalis</i>	37.12	16.928	2.926	1.432	19.023 c
<i>C. albicans</i>	54.478	21.114	3.018	2.028	28.748 b
<i>S. aureus</i>	39.494	16.05	16.492	13.478	27.993 b
M2	47.6315 A	15.577	6.3135 B	4.630	

dp = desvio-padrão; M1 = Média de valores da suscetibilidade de cada microrganismo para todos os cimentos; M2 = Média e desvio-padrão dos valores de inibição de cada cimento frente a todos os microrganismos.

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

5.1.1.1 Microrganismos vs. Cimentos testados

5.1.1.1.1 *Actinomyces naeslundii* vs Cimentos

A Figura 9 mostra o comportamento dos dois cimentos em relação ao *A. naeslundii*. O cimento AH Plus apresentou os maiores valores de transmitância (“T”) em todos os tempos após a espatulação (Imediato, 24h, 48h, 7 d e 14 d), quando comparado ao Epiphany, sendo que o maior valor de “T” foi no tempo após a espatulação de 24 hs. No tempo imediato o valor de “T” foi menor que o controle.

O Epiphany obteve valores inferiores ao AH Plus e ao controle em todos os tempos testados.

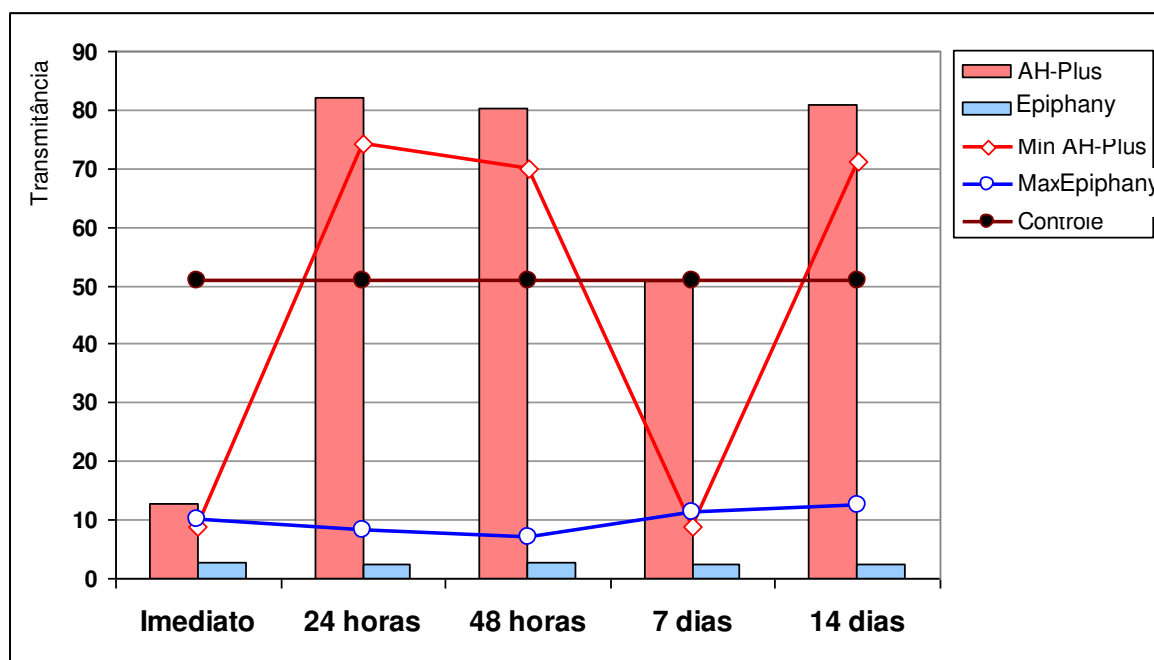


Figura 9 – Média dos valores de transmitância dos cimentos frente ao *A. naeslundii*

5.1.1.1.2 *Enterococcus faecalis* vs Cimentos

A Fig. 10 mostra o comportamento dos dois cimentos em relação ao *E. faecalis*. O AH Plus apresentou os maiores valores de “T” quando comparado ao Epiphany, sendo que o maior valor de “T” foi atingido no tempo de 14 dias após a espatulação. O valor de “T” foi superior ao do controle apenas no tempo de espatulação após 14 dias.

O Epiphany apresentou menores valores de “T” em relação ao AH Plus e ao controle em todos os tempos testados.

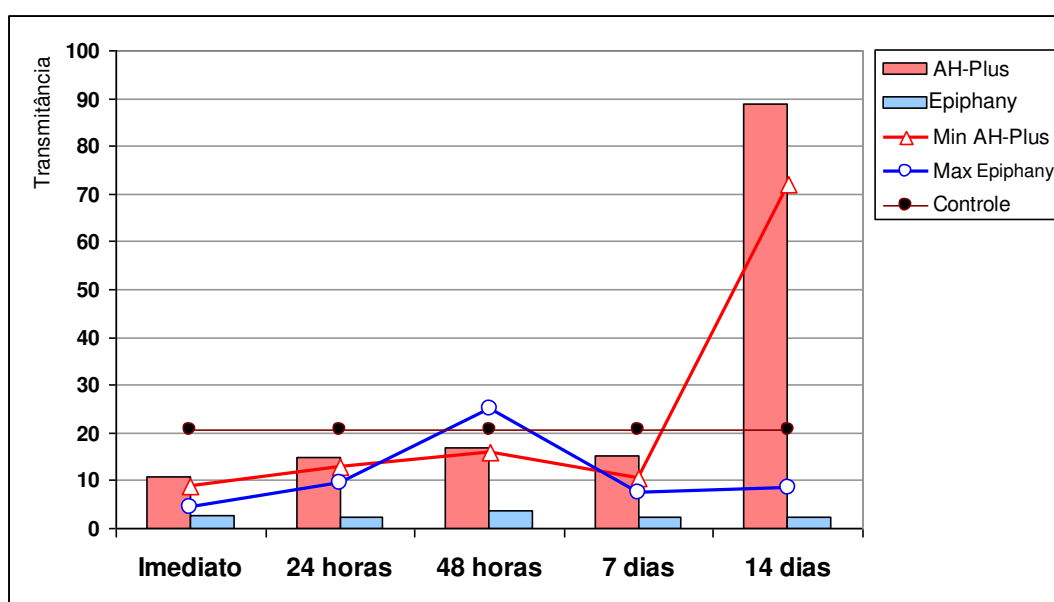


Figura 10 – Média dos valores de transmitância dos cimentos frente ao *Enterococcus faecalis*.

5.1.1.1.3. *Candida albicans* vs. Cimentos

A Figura 11 mostra o comportamento dos dois cimentos em relação a *C. albicans*. O cimento AH Plus apresentou as maiores médias dos valores de “T” em relação ao Epiphany, em todos os tempos após a espatulação, sendo que o maior valor de “T” no tempo de 24 hs. Os valores de “T” obtidos foram inferiores ao controle em todos os tempos testados.

O Epiphany apresentou menores valores de “T” em relação ao AH Plus e ao controle em todos os tempos testados.

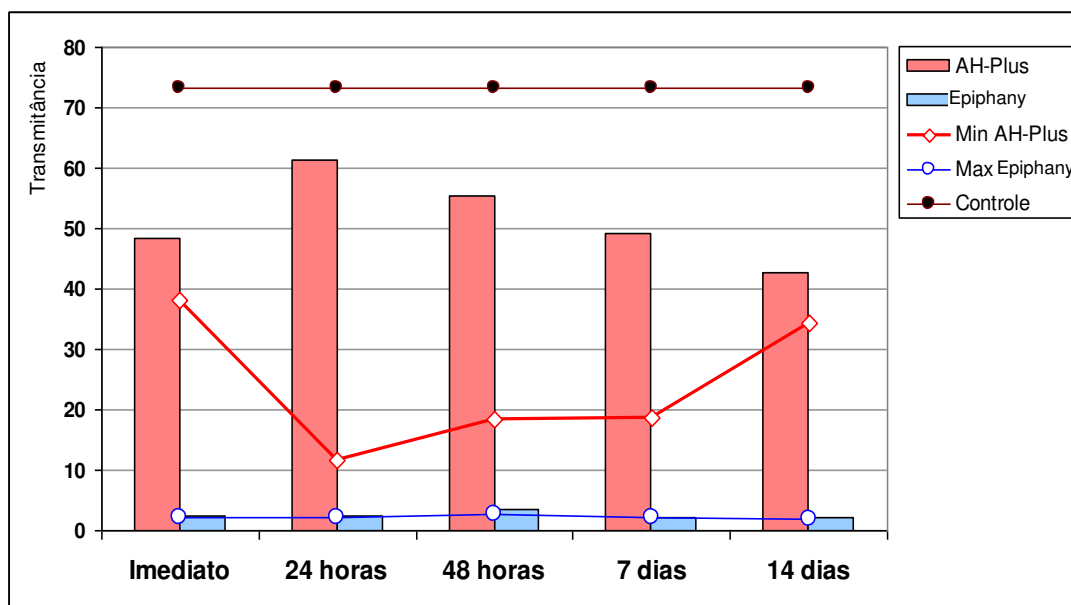


Figura 11 – Média dos valores de transmitância dos cimentos frente a *Candida albicans*.

5.1.1.1.4. *Staphylococcus aureus* vs Cimentos

A Figura 12 mostra o comportamento dos dois cimentos em relação ao *S. aureus*. O cimento AH Plus apresentou as maiores médias de “T” em todos os tempos após a espatulação quando comparado ao Epiphany. Em relação ao controle, o AH Plus obteve valores superiores no tempo imediato e 24 hs.

O Epiphany obteve valores inferiores ao AH Plus e ao controle em todos os tempos testados, sendo superior ao controle (e não ao AH Plus) apenas 24 hs após a espatulação.

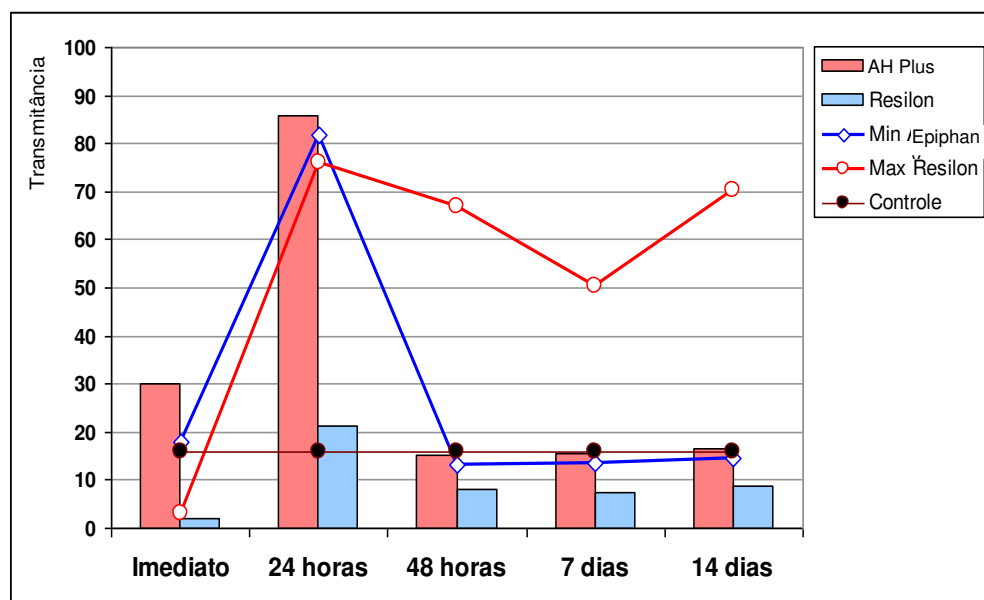


Figura 12 - Média dos valores de transmitância dos cimentos frente ao *S. aureus*

5.1.1.2 Dissolução dos cimentos na ausência de microrganismos

A Tabela 3 mostra a dissolução dos cimentos testados (BHI caldo+ cimento) sem a presença de microrganismos. O AH Plus apresentou maiores médias de “T” em todos os tempos de espatulação em relação ao Epiphany. Entretanto em ambos os cimentos, as menores médias de “T” foram encontradas no tempo imediato de espatulação, demonstrando grande dissolução (Fig. 13).

Tabela 3 – Média de dissolução dos cimentos.

	Dissolução	
	AH Plus	Epiphany
Tempo	Média (dp)	Média (dp)
Imediato	14.793 ± 0.887	0.482 ± 0.143
24 horas	66.064 ± 0.550	0.859 ± 0.201
48 horas	92.893 ± 0.326	1.098 ± 0.209
7 dias	92.361 ± 0.177	0.575 ± 0.085
14 dias	97.915 ± 0.324	1.328 ± 0.109

Quanto > T > passagem de luz < dissolução

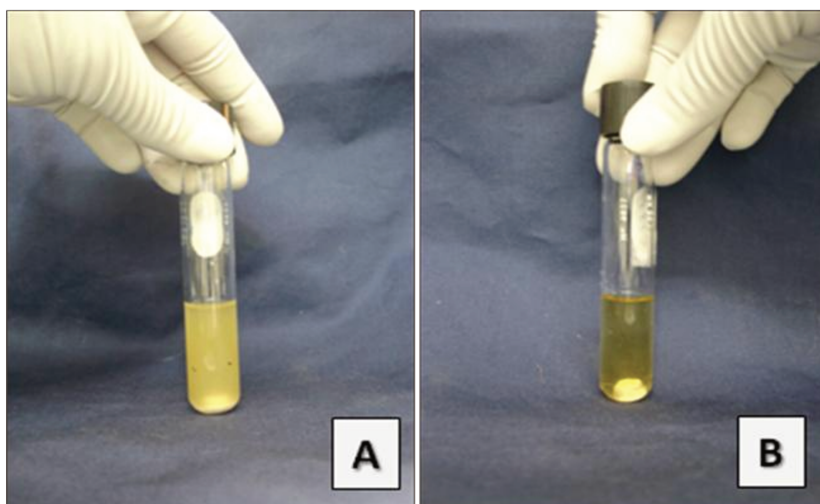


Figura 13 – Dissolução do cimento 14º dia após a espatulação, na 18ª hora de leitura: A – Epiphany; B – AH Plus.

No período imediato, os dois cimentos apresentaram dissolução quando espatulados e imediatamente foram expostos ao meio líquido. O cimento AH Plus (14.793) apresentou dissolução inferior ao Epiphany (0.482), pois obteve maiores médias de transmitância em todas às 18 horas de leitura do tempo imediato de espatulação. O Epiphany apresentou a média de valores de “T” próximos de zero, demonstrando grande dissolução.

No período 24 horas, houve um aumento de “T” nos dois cimentos testados.

No período de 48 horas, a média dos valores de “T” aumentou ainda mais para os dois cimentos testados.

No período de 7 dias, houve um pequeno decréscimo dos valores da média de “T” nos dois cimentos testados.

No período de 14 dias, os cimentos apresentaram comportamentos semelhantes, havendo um aumento nos valores das médias de “T”.

5.1.1.3 Dissolução de cimentos na presença de microrganismos

A Tabela 4 mostra as médias dos valores de “T” dos cimentos em cada tempo após a espatulação frente a todos os microrganismos testados. Verificamos que as maiores médias de “T” foram obtidas para o cimento AH Plus.

As menores médias dos valores de “T” foram encontradas no tempo de espatulação imediata para os dois cimentos. A maior média de “T” para o cimento AH Plus foi no 14^o. dia após a espatulação. Para o cimento Epiphany a maior média foi no tempo de 24 hs de espatulação.

Tabela 4 - Média dos valores de transmitância (“T”) para os cimentos testados em relação aos microrganismos

Microrganismos	Tempos		Após		espatulação					
	Imediato		24 horas		48 horas		7 dias		14 dias	
	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E
<i>A. naeslundii</i>	13.29	3.03	80.86	2.59	80.64	2.83	42.32	2.81	80.06	2.83
<i>E. faecalis</i>	21.95	2.75	24.11	2.59	20.53	4.49	32.48	2.35	86.53	2.45
<i>C. albicans</i>	51.19	2.30	57.44	3.05	54.20	4.23	53.81	3.01	55.75	2.50
<i>S. aureus</i>	30.28	2.17	85.60	33.0	27.05	15.85	26.62	13.41	27.92	17.04
Média	29.177	2.562	62.002	10.555	45.605	6,85	38.807	5.395	62.705	62.05

A = Cimento AH Plus; E = Cimento Epiphany.

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

5.1.1.4. Crescimento microbiano em placas de BHI Agar-sangue.

As Tabelas de 5 a 12 demonstram o crescimento microbiano em placas de BHI Agar-sangue dos cimentos frente aos microrganismos testados.

De um modo geral, os resultados demonstram maior ação antimicrobiana do cimento AH Plus e Primer nos primeiros tempos de espatulação (imediate e 24 horas), e o crescimento de todos os microrganismos quando em contato com o Epiphany.

5.1.1.4.1. Valores de transmitância dos cimentos na presença ou não de *Actinomyces naeslundii*

Comparando-se os resultados da Tabela 5, que mostra a média de transmitância dos cimentos, na presença ou não do *A. naeslundii*, e da Tabela 6, que demonstra o crescimento ou não do microrganismo, pode-se observar que houve redução do crescimento microbiano nos tempos de espatulação imediato e 24 horas para *A. naeslundii*, período em que houve maior dissolução do cimento AH Plus.

O Epiphany apresentou grande dissolução, entretanto não houve inibição do crescimento microbiano.

Em relação ao primer, que foi testado apenas no período imediato, houve inibição completa do crescimento microbiano.

Tabela 5 - Média dos valores de transmitância dos cimentos na presença ou não de *Actinomyces naeslundii*

<i>Actinomyces naeslundii</i>				
Tempo de espatulação	AH Plus / <i>A. naeslundii</i>	AH Plus / BHI	Epiphany / <i>A. naeslundii</i>	Epiphany / BHI
Imediato	13.29	14.793	3.03	0.482
24 horas	80.86	66.064	2.59	0.859
48 horas	80.64	92.893	2.83	1.098
7 dias	42.32	92.361	2.81	0.575
14 dias	80.06	97.915	2.83	1.328

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

Tabela 6 - Confirmação do crescimento do *Actinomyces naeslundii*.

	Imediato			24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Epiphany	Primer	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	
Imediato	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
1	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
2	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
3	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
4	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
5	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
6	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
7	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
8	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
9	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
10	- - -	++ +	- - -	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
11	- - -	++ +	- - -	- + +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
12	- - -	++ +	- - -	- + +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
13	- - -	++ +	- - -	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
14	- - -	++ +	- - -	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
15	- - -	++ +	- - -	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
16	- - -	++ +	- - -	- + +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
17	- - -	++ +	- - -	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
18	- - -	++ +	- - -	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +

5.1.1.4.2. Valores de transmitância dos cimentos na presença ou não de *Enterococcus faecalis*

Comparando-se os resultados da Tabela 7, que mostra a média de transmitância dos cimentos, na presença ou não do *E. faecalis* e da Tabela 8, que demonstra o crescimento ou não do microrganismo, pode-se observar que houve redução do crescimento microbiano nos tempos de espatulação imediato (menor crescimento) e 24 horas para o AH Plus.

O Epiphany apresentou grande dissolução, entretanto não houve inibição do crescimento microbiano.

Em relação ao primer, que foi testado apenas no período imediato, houve redução do crescimento microbiano.

Tabela 7– Média dos valores de transmitância dos cimentos na presença ou não do microrganismo.

<i>Enterococcus faecalis</i>				
Tempo de espatulação	AH Plus / <i>E. faecalis</i>	AH Plus / BHI	Epiphany / <i>E. faecalis</i>	Epiphany / BHI
Imediato	21.95	14.793	2.75	0.482
24 horas	24.11	66.064	2.59	0.859
48 horas	20.53	92.893	4.49	1.098
7 dias	32.48	92.361	2.35	0.575
14 dias	86.53	97.915	2.45	1.328

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

Tabela 8 - Confirmação do crescimento do *Enterococcus faecalis*.

	Imediato			24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Epiphany	Primer	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	
Imediato	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1	+++	+++	+++	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	- + +	+++	+++	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	- - +	+++	- - +	- + +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	- - +	+++	- - +	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	- - -	+++	- + +	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	- - -	+++	- - -	- + +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	- - +	+++	+++	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	- - +	+++	- - -	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	- - +	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
11	+++	+++	- - -	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12	- - +	+++	+++	- + +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
13	- - +	+++	- - -	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
14	- + +	+++	- - -	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	- - -	+++	- - -	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
16	- - -	+++	- - -	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
17	- - +	+++	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
18	- - +	+++	- - +	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

5.1.1.4.3. Valores de transmitância dos cimentos na presença ou não de *Candida albicans*

Comparando-se os resultados da Tabela 9, que mostra a média de transmitância dos cimentos, na presença ou não da *C. albicans* e da Tabela 10, que demonstra o crescimento ou não do microrganismo, pode-se observar que houve redução do crescimento microbiano no tempos de espatulação imediato para o AH Plus.

O Epiphany apresentou grande dissolução, entretanto não houve inibição do crescimento microbiano.

Em relação ao primer, que foi testado apenas no período imediato, houve redução do crescimento microbiano.

Tabela 9 – Média dos valores de dissolução dos cimentos com ou sem microrganismo.

<i>Cândida albicans</i>				
Tempo de espatulação	AH Plus / <i>C. albicans</i>	AH Plus / BHI	Epiphany / <i>C. albicans</i>	Epiphany / BHI
Imediato	51.19	14.793	2.30	0.482
24 horas	57.44	66.064	3.05	0.859
48 horas	54.20	92.893	4.23	1.098
7 dias	53.81	92.361	3.01	0.575
14 dias	55.75	97.915	2.50	1.328

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

Tabela 10 - Confirmação do crescimento de *Candida albicans*.

	Imediato			24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Epiphany	Primer	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	
Imediato	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
1	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
2	- - -	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
3	- - -	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
4	- - -	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
5	- - +	++ +	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
6	- - -	++ +	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
7	- - +	++ +	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
8	- ++	++ +	- + +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
9	- ++	++ +	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
10	- - +	++ +	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
11	- - +	++ +	- - +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
12	- ++	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
13	- - +	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
14	- - +	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
15	++ +	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
16	++ +	++ +	- - -	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
17	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +
18	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +	++ +

5.1.1.4.4. Valores de transmitância dos cimentos na presença ou não de *Staphylococcus aureus*

Comparando-se os resultados da Tabela 11, que mostra a média de transmitância dos cimentos, na presença ou não *S. aureus* e da Tabela 12, que demonstra o crescimento ou não do microrganismo, pode-se observar que não houve inibição do crescimento microbiano em todos os tempos após a espatulação para todos os cimentos e o primer.

Tabela 11- Média dos valores de dissolução dos cimentos com ou sem microrganismo.

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Tempo de espatulação	AH Plus / <i>S. aureus</i>	AH Plus / BHI	Epiphany / <i>S. aureus</i>	Epiphany / BHI
Imediato	30.28	14.793	2.17	0.482
24 horas	85.60	66.064	33.99	0.859
48 horas	27.05	92.893	15.85	1.098
7 dias	26.62	92.361	13.41	0.575
14 dias	27.92	97.915	17.04	1.328

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

Tabela 12 - Confirmação do crescimento de *Staphylococcus aureus*.

	Imediato			24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Epiphany	Primer	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	AH Plus	Epiphany	
Imediato	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
14	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
17	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
18	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

5.1.1.5. Diferença da média de transmitância entre cimento + inoculo e dissolução do cimento (na ausência de microrganismos)

A Tabela 13 mostra a diferença entre as médias dos valores de “T” dos microrganismos na ausência dos cimentos (M1) e da dissolução dos cimentos na ausência de microrganismos (M2).

Em relação ao AH Plus observamos que:

- a) No tempo imediato houve uma maior dissolução do cimento e conseqüentemente maior redução no crescimento microbiano.
- b) No tempo de 24 hs, houve uma diminuição da dissolução do cimento e redução parcial no crescimento microbiano.
- c) Nos demais tempos testados, não houve dissolução do cimento com conseqüente crescimento microbiano.

Em relação ao Epiphany observamos que houve uma grande dissolução em todos os tempos testados, sem inibição microbiana.

Tabela 13- Diferença da média de transmitância entre cimento+inóculo e dissolução do cimento

	Imediato		24 horas		48 horas		7 dias		14 dias	
	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E
M1	29.177	2.562	62.002	10.555	45.605	6,85	38.807	5.395	62.705	6.24.05
M2	14.793	0.482	66.064	0.859	92.893	1.098	92.361	0.575	97.915	1.328
M3	14.384	2.08	-4.062	9.696	-47.288	5.752	-53.554	4.82	-35.21	4.877

M1 = Média de Transmitância para tubos contendo BHI + microrganismos;

M2 = Média de Transmitância para dissolução dos cimentos (sem os microrganismos);

M3 = Diferença entre as médias M1 e M2;

A = Cimento AH Plus; E = Cimento Epiphany.

Quanto > T > passagem de luz < dissolução

Quanto > T > passagem de luz < crescimento microbiano

5.1.2 Método de difusão em Agar

As Tabelas 14, 15, 16, 17 e 18 mostram a atividade antimicrobiana dos cimentos testados em todos os tempos após a espatulação.

Na Tabela 14 podemos observar que no tempo imediato, o primer foi o único a formar halo de inibição contra todos os microrganismos testados. O Epiphany e o AH Plus não formaram halos em nenhum dos microrganismos testados e não tiveram ação por contato direto. Não houve diferença estatística entre os cimentos testados (Kruskal-Wallis Test).

C. albicans e *A. naeslundii* foram os microrganismos menos resistentes, apresentando os maiores halos de inibição ($n= 3,83$), seguidos do *E. faecalis* ($n=1,063$) e do *S. aureus* ($n=0,67$), quando em contato com o Primer. Houve crescimento dos microrganismos em contato com o AH Plus e o Epiphany. O teste aplicado não demonstrou diferença estatística entre os microrganismos.

Tabela 14 – Halos de inibição (mm), no tempo imediato, produzidos pela ação antimicrobiana dos cimentos e primer testados frente aos microrganismos.

	Imediato			
	<i>C. albicans</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S.aureus</i>
Epiphany	0 ($\pm 0,00$) Aa	0 ($\pm 0,00$) Aa	0 ($\pm 0,00$) Aa	0 ($\pm 0,00$) Aa
AH Plus	0 ($\pm 0,00$) Aa	0 ($\pm 0,00$) Aa	0,27 ($\pm 0,00$) Aa	0 ($\pm 0,00$) Aa
Primer	3,83 ($\pm 1,82$) Aa	3,83 ($\pm 1,82$) Aa	1,06 ($\pm 1,002$) Aa	0,77 ($\pm 1,066$) Aa

* Letra maiúscula: Microrganismo mais resistente (Kruskal-Wallis Test); Letra minúscula: Melhor Cimento ou primer testado (Kruskal-Wallis Test).

Na Tabela 15 podemos observar que no período de 24 horas, o primer formou halo de inibição frente a *C. albicans* (n=2,396) e o AH Plus formou halo frente ao *S.aureus* (n=0,67). O Epiphany não formou halo frente a nenhum dos microrganismos testados e não teve ação por contato direto. Não houve diferença estatística entre os cimentos testados (Kruskal-Wallis Test).

C. albicans (n=2,396) apresentou o maior halo de inibição quando em contato com o Primer, seguido do *S. aureus* (n=0,7) frente ao AH Plus. Houve crescimento dos microrganismos em contato com o Epiphany. Não houve diferença estatística entre os microrganismos.

Tabela 15 – Halos de inibição (mm), no tempo de 24 horas, produzidos pela ação antimicrobiana dos cimentos e primer testados frente aos microrganismos.

	24 horas			
	<i>C. albicans</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S.aureus</i>
Epiphany	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa
AH Plus	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0,67 (±1,21) Aa
Primer	2,39 (±1,54) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa

* Letra maiúscula: Microrganismo mais resistente (Kruskal-Wallis Test); Letra minúscula: Melhor Cimento ou primer testado (Kruskal-Wallis Test).

Na Tabela 16, podemos observar que no período de 48 horas frente a *C. albicans*, os cimentos obtiveram as seguintes médias de halos: primer (n=1,1333), AH Plus (n=0,49), Epiphany (n=0,3033), não tendo diferença estatística entre eles.

Frente ao *A. naeslundii*, o AH Plus obteve a maior média (n=2,3267), seguido do Epiphany (n=1, 0233). O primer não formou halo de inibição. Houve diferença estatística entre o AH Plus e Epiphany.

Frente ao *E. faecalis*, o Primer formou o maior Halo (n=1,5433), seguido do AH Plus (n=0,3533). O Epiphany não formou halo de inibição. Não houve diferença estatística entre os cimentos

O AH Plus foi o único a formar halo de inibição frente ao *S. aureus* (n=0,7), o Epiphany e o Primer não formaram halo. Não houve diferença estatística entre os cimentos testados.

O maior halo de inibição formado foi do *A. naeslundii* (n=2,3267) frente ao AH Plus, seguido do *E. faecalis* (n=1,5433) e *C. albicans* (n=1,333) frente ao Primer. Não houve diferença estatística entre os microrganismos.

Tabela 16 – Halos de inibição (mm), no tempo de 48 horas, produzidos pela ação antimicrobiana dos cimentos e primer testados frente aos microrganismos.

	48 horas			
	<i>C. albicans</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S.aureus</i>
Epiphany	0,30 ($\pm 0,26$) Aa	1,02 ($\pm 0,62$) Ab	0,00 ($\pm 0,00$) Aa	0,0 (± 0) Aa
AH Plus	0,49 ($\pm 0,84$) Aa	2,32 ($\pm 0,53$) Aa	0,35 ($\pm 0,61$) Aa	0,07 ($\pm 1,21$) Aa
Primer	1,13 ($\pm 0,22$) Aa	0,00 ($\pm 0,00$) Bb	1,54 ($\pm 1,13$) Aa	0,0 ($\pm 1,06$) Aa

* Letra maiúscula: Microrganismo mais resistente (Kruskal-Wallis Test); Letra minúscula: Melhor Cimento ou primer testado (Kruskal-Wallis Test).

Na Tabela 17, podemos observar que no período de 7 dias o AH Plus foi o único cimento a formar halo de inibição: *C. albicans* (n=0,7667), *A. naeslundii* (n=0,54), *E. faecalis* (n=0,73). O cimento não formou halo frente ao *S. aureus*.

O Primer e o Epiphany não formaram halo de inibição frente a nenhum dos microrganismos testados. Não houve diferença estatística entre os cimentos testados.

O maior halo de inibição formado foi o *E. faecalis* (n=0,73), seguido do *A. naeslundii* (n=0,54). Houve crescimento dos microrganismos quando em contato com o Primer e o Epiphany. Não houve diferença estatística em os microrganismos.

Tabela 17- Halos de inibição (mm), no tempo de 7 dias, produzidos pela ação antimicrobiana dos cimentos e primer testados frente aos microrganismos.

	7 dias			
	<i>C. albicans</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>
Epiphany	0,0 (±0) Aa	0,0 (±0) Aa	0,0 (±0) Aa	0,0 (±0) Aa
AH Plus	0,0 (±0) Aa	0,54 (±0,93) Aa	0,73 (±1,26) Aa	0,0 (±0) Aa
Primer	0,0 (±0) Aa	0,0 (±0) Aa	0,0 (±0) Aa	0,0 (±0) Aa

* Letra maiúscula: Microrganismo mais resistente (Kruskal-Wallis Test); Letra minúscula: Melhor Cimento ou primer testado (Kruskal-Wallis Test).

Na Tabela 18, podemos observar que no período de 14 dias, nenhum cimento testado e o Primer formaram halo de inibição.

Houve crescimento dos microrganismos quando em contato com o Primer, AH Plus e o Epiphany.

Tabela 18 – Halos de inibição (mm), no tempo de 14 dias, produzidos pela ação antimicrobiana dos cimentos e primer testados frente aos microrganismos.

	14 dias			
	<i>C. albicans</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S.aureus</i>
Epiphany	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa
AH Plus	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa
Primer	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa	0 (±0,00) Aa

* Letra maiúscula: Microrganismo mais resistente (Kruskal-Wallis Test); Letra minúscula: Melhor Cimento ou primer testado (Kruskal-Wallis Test).

Na Tabela 19 podemos observar que a maior média de zona de inibição dos cimentos contra todos os microrganismos foi a do Primer (n=0,72844), seguida do AH Plus (n=0,32883) e do Epiphany (n=0,06632).

A maior média de zona de inibição de cada microrganismo contra todos os cimentos foi o da *C. albicans* (n=0,59461), seguido do *A.naeslundii* (n=0,51466), *E. faecalis* (n=0,24597) e do *S. aureus* (n=0,14288).

Tabela 19 – Média da dos halos de inibição dos cimentos frente aos microrganismos e média da suscetibilidade dos microrganismos frente aos cimentos testados

Microrganismos	Cimentos			M1
	Epiphany	AH Plus	Primer	
<i>C. albicans</i>	0,06063	0,25134	1,47186	0,59461
<i>A. naeslundii</i>	0,20466	0,57334	0,766	0,51466
<i>E. faecalis</i>	0	0,21666	0,52126	0,24597
<i>S.aureus</i>	0	0,274	0,15466	0,14288
M2	0,06632	0,32883	0,72844	

* M1 = Média de valores da suscetibilidade microbiana para todos os cimentos; M2 = Média dos valores de inibição para cada cimento frente a todos os microrganismos.

5.2 Microinfiltração coronária

Os resultados obtidos durante o teste de infiltração coronária são mostrados na Tabela 20.

Todas as amostras utilizadas no controle positivo sofreram infiltração no período de 24 horas, e as amostras do controle negativo não infiltraram durante os 90 dias de realização do teste. O teste exato de Fisher foi aplicado para fazer a comparação entre o percentual de dentes que não sofreram infiltração. Houve diferença estatística entre os grupos avaliados ($p=0,023$), tendo o cimento AH Plus obtido resultado superior ao Epiphany.

O conjunto AH Plus/guta-percha apresentou 9 dentes, dos 15 dentes da amostra inicial, que não sofreram infiltração coronária durante os 90 dias de observação. Nas 6 amostras que sofreram infiltração a média foi de 5,5 dias para que houvesse a infiltração.

O cimento Epiphany apresentou apenas 3 amostras que não sofreram infiltração no período de observação do teste. Três amostras sofreram infiltração, apresentando uma média de 4.5 dias para que tenha havido infiltração.

Pudemos observar clinicamente a alteração de cor nas raízes dos dentes obturados com o sistema Epiphany/Resilon, que se mantiveram rosa durante todo o experimento (Fig, 14).

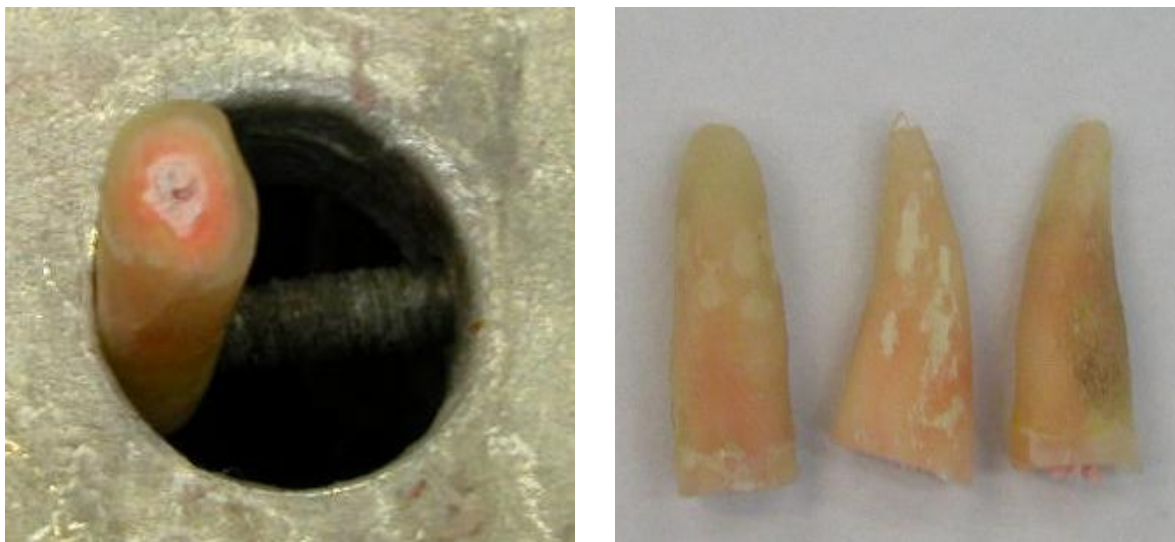


Figura 14 – Coloração do dente após obturação com o sistema Epiphany.

Tabela 20 – Infiltração coronária de dentes obturados com AH Plus/guta-percha e Sistema Epiphany pelo período de 90 dias de observação.

Amostras (n=15)																
GRUPOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Média
AH Plus	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	6	NI	NI	4	4	5	14	15	8
Epiphany	6	NI	NI	NI	4	4	6	1	1	1	1	5	5	6	8	4
Controle Positivo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	1
Controle Negativo	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	-	-	-	-	-	

Número nas linha corresponde ao dia que o dente sofreu infiltração;
NI= Não houve infiltração.

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA RESIDUAL DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES TESTADAS NA DESINFECÇÃO DE CONES ATRAVÉS DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR

Tabelas 21 e 22 mostram a presença ou ausência de halos de inibição e seus valores médios nos grupos experimentais. Os resultados mostraram que ambos agentes químicos testados foram incapazes de se ligarem aos componentes dos cones de guta-percha e ter efeito residual nas placas de Agar nos períodos testados.

Entretanto, cones de Resilon que ficaram imersos na CLX gel 2% formaram zonas de inibição de 0.28mm (10 min), 0.7mm (20 min), e 1.2mm (30 min) frente ao *E. faecalis*.

Não foram formados halos de inibição associados à desinfecção com o hipoclorito de sódio 5,25% em ambas as bactérias e em todos os períodos testados.

A solução salina estéril não teve ação antimicrobiana, permitindo o crescimento em todos os tempos testados.

Tabela 21 – Halos de inibição (mm) produzidos pela ação residual dos agentes químicos testados frente aos cones de Guta-percha.

Tempo	Resilon					
	Solução Salina		NaOCl 5,25%		CHX gel 2%	
	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. faecalis</i>
1 min	0	0	0	0	0	0
5 min	0	0	0	0	0	0
10 min	0	0	0	0	0	0
20 min	0	0	0	0	0	0
30 min	0	0	0	0	0	0

* NaOCl 5,25% = hipoclorito de sódio 5,25%; CHX gel 2% = clorexidina gel 2%.

Tabela 22 – Halos de inibição (mm) produzidos pela ação residual dos agentes químicos testados frente aos cones de guta-percha Konne.

Tempo	Resilon					
	Solução Salina		NaOCl 5,25%		CHX gel 2%	
	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>E. faecalis</i>
1 min	0	0	0	0	0	0
5 min	0	0	0	0	0	0
10 min	0	0	0	0	0	0,28
20 min	0	0	0	0	0	0,70
30 min	0	0	0	0	0	1,20

5.4 AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS DA SUPERFÍCIE DOS CONES EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)

A análise no Microscópio Eletrônico de Varredura não demonstrou alteração nas características superficiais dos cones depois da imersão em clorexidina gel 2% e hipoclorito de sódio 5.25%, em todos os períodos testados e não apresentou cristais de cloreto na superfície dos cones após a imersão em hipoclorito de sódio 5.25% (Figs 15-18).

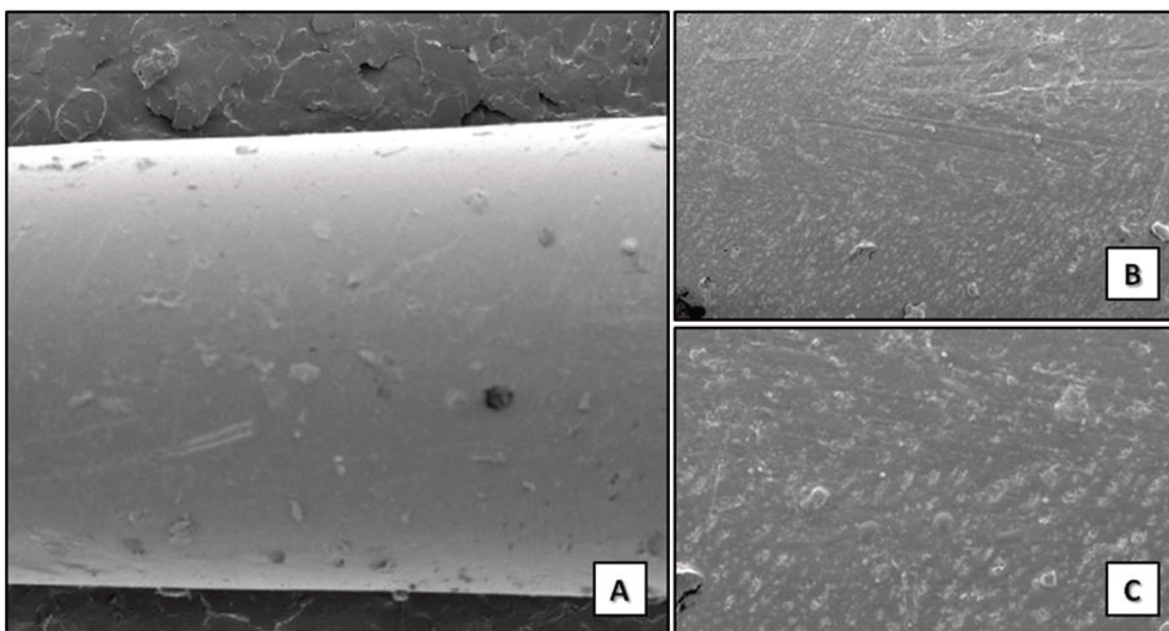


Figura 15 – Fotomicrografia em MEV de cones de guta-percha da marca Konne que não receberam tratamento superficial de desinfecção (5kV). A) Aumento de x150; B) Aumento de x500; C) Aumento de x1500.

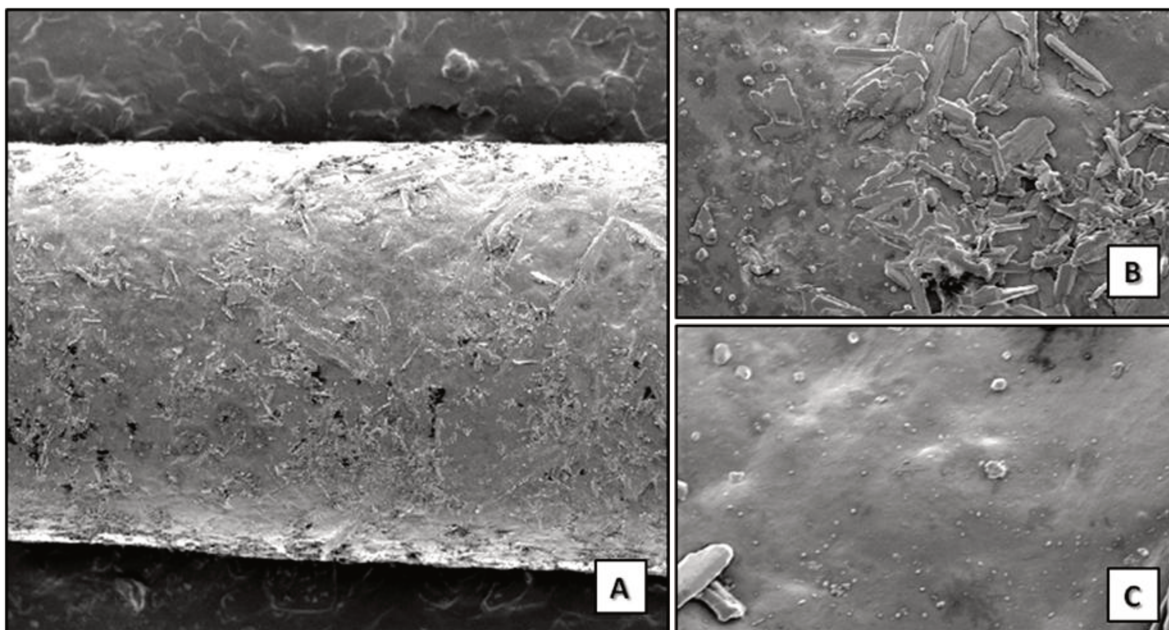


Figura 16 – Fotomicrografia em MEV de cones de Resilon que não receberam tratamento superficial de desinfecção (5kV). A) Aumento de x150; B) Aumento de x500; C) Aumento de x1500.

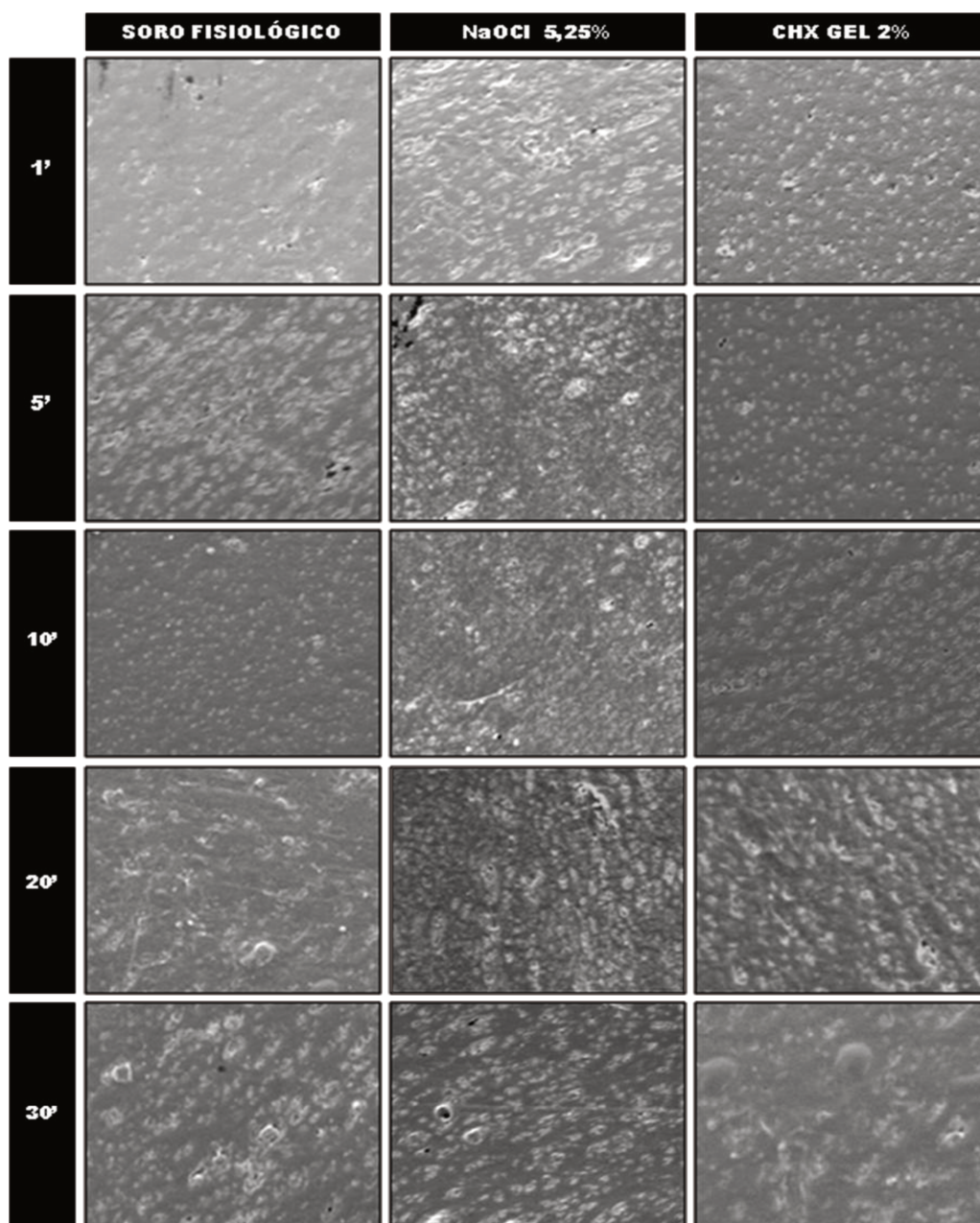


Figura 17 – Fotomicrografia em MEV de cones de guta-percha após desinfecção com NaOCl 5,25% e CHX gel 2% no período de 1', 5', 10', 20'e 30'.

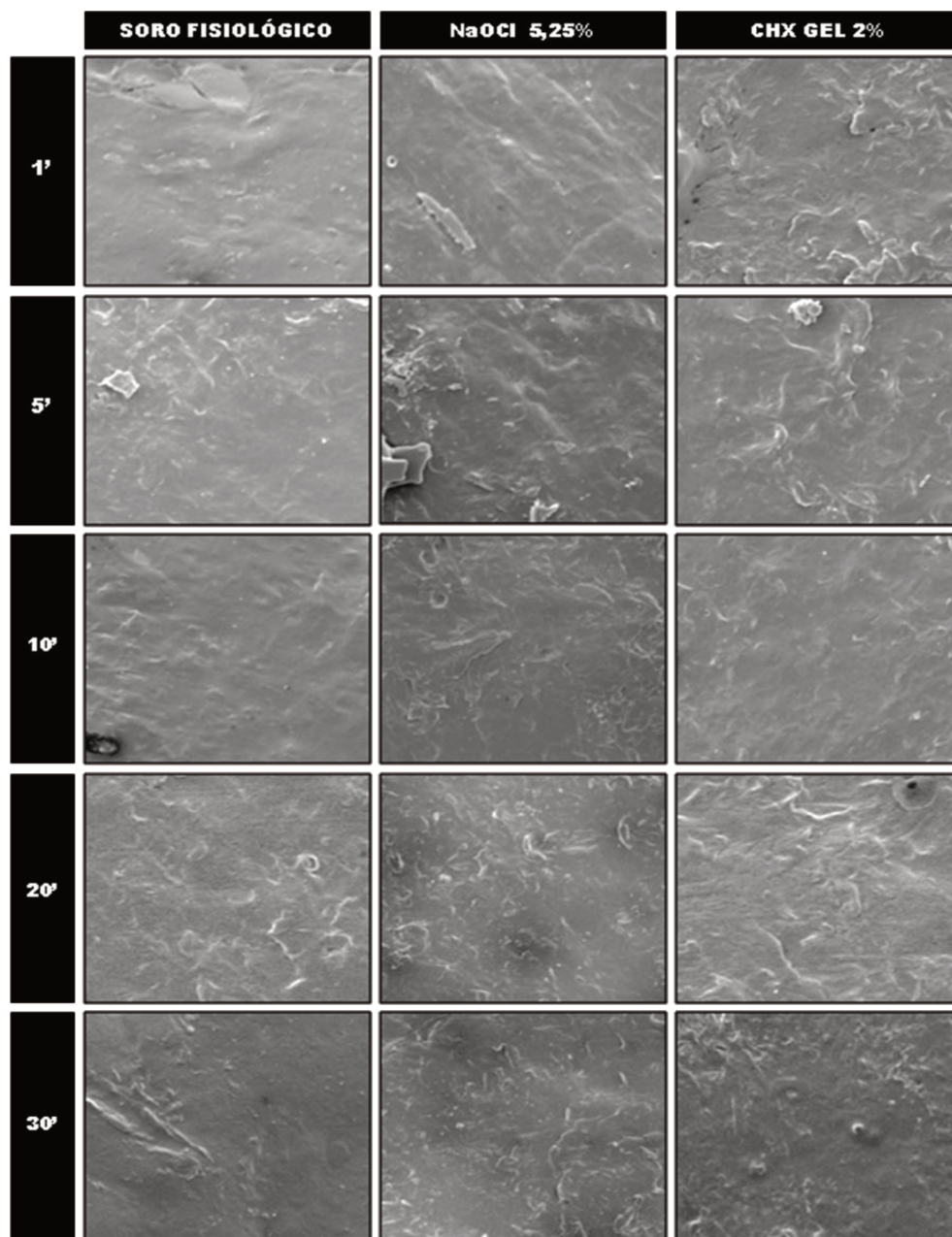


Figura 18 – Fotomicrografia em MEV de cones de resilon após desinfecção com NaOCl 5,25% e CHX gel 2% no período de 1', 5', 10', 20'e 30'.

6 DISCUSSÃO

6.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS CIMENTOS AH PLUS E DO EPIPHANY ATRAVÉS DO MÉTODO DE CONTATO DIRETO EM MEIO LIQUIDO, PELA OBSERVAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO MICROBIANO E DO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR.

Na busca do cimento obturador de canais radiculares ideal, inúmeras pesquisa tem sido realizadas tanto no que se refere às propriedades físico-químicas como, nas propriedades biológicas e antimicrobianas.

6.1.1 Método de contato direto

A eliminação dos microrganismos do interior do sistema de canal radicular é um dos principais objetivos da terapia endodôntica. Esta sanificação é alcançada através da limpeza e modelagem aliada a uma substância química auxiliar com comprovada ação antimicrobiana, uma obturação tridimensional e o selamento coronário. Entre outras características, o cimento endodôntico deve promover um correto selamento coronário e apical aliado a uma ação antimicrobiana.

A metodologia do contato direto tem sido utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana de muitos cimentos endodônticos (Gomes *et al.*, 2004;

Pizzo *et al.* 2006; Slutzky *et al.* 2008) em seu contato direto com o microrganismo testado. Neste trabalho ela foi utilizado para testar a ação antimicrobiana dos cimentos, a dissolução dos mesmos e a interferência dessa dissolução sobre o crescimento microbiano. Quanto mais alto o valor de transmitância maior, maior a passagem de luz, menor crescimento microbiano e conseqüente maior a ação antimicrobiana do cimento.

O cimento AH Plus demonstrou maiores valores de transmitância, ou seja, maior ação antimicrobiana que o cimento Epiphany. Entretanto, nenhum dos cimentos testados foi 100% eficaz na eliminação de todos os microrganismos testados.

A ação antimicrobiana do AH Plus pode estar relacionada com a presença em sua composição do Bisphenol-A diglycidyl éter, componente da resina epóxica, que foi identificado como elemento mutagênico, o qual pode ser também citotóxico, especialmente em concentrações pouco diluídas (Heil *et al.*, 1996). Também pode ser relacionada com a liberação de formaldeído durante sua presa (Leonardo *et al.*, 1999).

A maior ação antimicrobiana do AH Plus foi observada no tempo imediato após a espatulação, seguida do tempo de espatulação após 24 hs, períodos estes relacionados com a maior dissolução do cimento. Após estes períodos, onde houve pouca dissolução do cimento, não houve ação

antimicrobiana. Este fato concorda com os resultados de Gomes *et al* (2004) de Pizzo *et al.* (2006).

No presente trabalho *E. faecalis* demonstrou ser o microrganismo mais resistente, apresentando a menor média de valores de transmitância (19,023) e o *A. naeslundii* foi o microrganismo mais suscetível (31, 079) contra todos os cimentos testados.

Em relação a maior suscetibilidade do *A. naeslundii* frente ao AH Plus, este resultado difere do de Gomes *et al.* (2004), que observaram uma maior suscetibilidade do *S. aureus*.

A pouca ação antimicrobiana do AH Plus frente ao *E. faecalis* está de acordo com os resultados encontrados por Leonardo *et al.* (1999), Siqueira *et al.* (2000), Mickel *et al.* (2003), Gomes *et al.* (2004), Pizzo *et al.* (2006).

Çobankara *et al.* (2004) utilizando a metodologia do contato direto, obtiveram uma completa inibição do crescimento do *E. faecalis* quando em contato com o AH Plus. Resultado semelhante a este foi encontrado por Kayaoglu *et al.* (2005), onde os autores afirmaram que o AH Plus inibiu o crescimento do *E. faecalis* a níveis indetectáveis.

Recentemente foi desenvolvido um sistema de obturação composto por cones de Resilon e um cimento resinoso de polimerização dual, ao qual adere tanto a parede dentinária como ao cone, formando um único bloco. Este cimento é

não-tóxico, não-mutagênico, biocompatível e menos irritante que os cimentos a base de epóxi-amina (Shipper *et al.*, 2004, 2005). Entretanto autores como Bouillaguet *et al.* (2006), Susini *et al.* (2006) e Eldeniz *et al.* (2007) relatam o efeito citotóxico do Epiphany mesmo após 7 dias de espatulação, estando o mesmo provavelmente relacionado com a liberação de monômeros hidrofílicos não polimerizados (HEMA, TEGDMA) presentes na resina de metacrilato. HEMA é um possível estimulador de ROS (espécies reativas de oxigênio), que reduz a atividade mitocondrial de respiração, sendo

Além disso, a ausência da completa polimerização do primer no ápice radicular pode ser uma fonte de indução de inflamação persistente aos tecidos periapicais (Bouillaguet *et al.*, 2006).

Em nossos achados, o cimento Epiphany foi incapaz de inibir o crescimento dos microrganismos em todos os tempos após a espatulação., concordando com os resultados de Slutsky-Goldberg *et al.* (2008). Estes autores afirmaram que além de não possuir ação antimicrobiana, este cimento promoveu o crescimento bacteriano, através da liberação de monômeros devido a sua alta solubilidade.

Solubilidade é a capacidade de uma substância se dissolver em contato com outra, expressa como concentração da solução saturada formada posteriormente (Souza-Neto, *et al.*, 1999). Ao comparar a solubilidade dos dois cimentos testados, em nosso trabalho, foi possível observar através da leitura no

espectrofotômetro que o cimento Epiphany mostrou-se altamente solúvel quando em contato com o meio de cultura, na presença ou não de microrganismo, tendo alcançado valores de transmitância próximos de zero, em quase todos os períodos testados. Contudo, o AH Plus apresentou valores de transmitância que demonstraram pouca ou quase nenhuma dissolução 24 horas após a espatulação.

Segundo as especificações 57 da American Dental Association, a solubilidade dos cimentos não deve exceder a 3% de sua massa. No ambiente oral os cimentos resinosos podem absorver água e liberar monômeros livres. A liberação dos mesmos podem estimular o crescimento microbiano, justificando assim o crescimento do *E. faecalis* na presença do cimento Epiphany (Slutsky-Goldberg *et al.*, 2008). Além disso, a liberação de cálcio pelo cimento, o que está relacionado com sua alta taxa de solubilidade, não impede o crescimento de *E. faecalis*. Trabalhos na literatura relatam a habilidade de *E. faecalis* formar biofilmes em canais medicados com hidróxido de cálcio (Distel *et al.*, 2002).

Ao analisarem a característica de solubilidade do cimento Epiphany e AH Plus, Donnelly *et al.* (2007) demonstraram a alta capacidade de absorção de água (8%) do Epiphany, quando comparada ao AH Plus (1,1%). Resultados semelhantes foram obtidos por Versiani *et al.* (2006) que relataram que o cimento AH Plus se encontra dentro das normas (0,21%). Entretanto, o Epiphany apresentou altos valores de dissolução (3,41%). McMichen *et al.* (2003) ao testarem a solubilidade do AH Plus encontraram valores semelhantes (0,32%) ao encontrados por Versiani *et al.* (2006).

Schäfer & Zandbiglari (2003) concluíram que após 28 dias de imersão em várias soluções testadas o AH Plus demonstrou ser virtualmente insolúvel, apresentando perda inferior a 3% de sua massa neste período de imersão. Estes achados corroboram com os do presente estudo, onde após 18 horas em contato com meio de cultura o AH Plus demonstrou pouca solubilidade através da leitura em espectrofotômetro.

McMichen *et al.* (2003), ao investigaram as propriedades física de 5 cimentos (Root 801®, Tubli-Seal EWT®, AH Plus®,Apetix® e Endion®) relataram que o AH Plus foi o cimento que apresentou menor solubilidade em todo o experimento.

Franco *et al.* (2002) relataram que a não polimerização total do Epiphany pode estar relacionada à presença de oxigênio, que é responsável pela inibição da polimerização. Entretanto no presente estudo foi observada uma camada superficial neste cimento que não tomou presa, mesmo sendo mantido em câmara de anaerobiose, pelo período de 14 dias, que foi o período experimental utilizado por Shipper *et al.* (2004), para simular as condições do interior dos canais radiculares, concordando com os trabalhos de Versiani *et al.* (2006) e de Camargo (2008)

Versiani *et al.* (2006) verificaram que as amostras do cimento Epiphany apresentavam uma fina camada não polimerizada mesmo após o período

estabelecido pelo fabricante, que é de 25 min, sendo ou não expostos à luz do fotopolimerizador.

Camargo (2008) reporta que espécimes de Epiphany, fotopolimerizados por 40 s em sua face superior e mantidos na estufa de CO₂ a 37°C, no interior de recipiente com tampa, por um período de 6 h, não tomaram presa.

Segundo a recomendação do fabricante, quando a obturação estiver concluída, deve-se fotopolimerizar por 40 s a superfície coronária do Epiphany para que ocorra uma vedação coronária imediata. O Epiphany irá tomar presa no interior do canal em aproximadamente 25 min, criando um monobloco resistente à microinfiltração. Apesar do Epiphany pertencer a um sistema resinoso dual, no presente estudo não foi realizado a fotopolimerização das amostras para simular as condições próximas a região periapical dos dentes, onde não ocorre a fotopolimerização pela ação da luz e sim uma possível polimerização química.

6.1.2 Método de difusão em Agar

O método de difusão em Agar usado neste estudo, é um dos métodos mais utilizados, *in vitro*, para avaliar atividade antimicrobiana dos materiais odontológicos (Chong *et al.*, 1994; Kaplan *et al.*, 1999). Tem como vantagem permitir a comparação direta do cimento frente ao microrganismo testado, indicando qual o cimento que tem potencial de eliminar bactérias no meio ambiente do sistema de canais radiculares (Gomes *et al.*, 2004), sendo bastante utilizado para fornecer uma idéia do comportamento geral das substâncias testadas.

Entretanto, o método de difusão em Agar apresenta algumas limitações como a não distinção entre as propriedades bactericidas e bacteriostáticas do material testado (Tobias, 1988) e a influência da capacidade de difusão do material no meio (Siqueira *et al.*, 2000; Çobankara *et al.*, 2004).

Em nosso trabalho pudemos observar que o Primer apresentou a maior média de halo de inibição (0,72844), seguido do AH Plus (0,32883) e do Epiphany (0,06632). O microrganismo mais resistente a todos os cimentos testados foi o *S.aureus* e o mais suscetível foi a *C. albicans*. Gomes *et al.* (2004) reportaram a maior suscetibilidade da *C. albicans*, concordando com nossos achados e a maior resistência ao *E. faecalis*.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que tenham utilizados esta metodologia para testarem a ação antimicrobiana do Primer que compõe o Sistema Epiphany, não sendo possível a comparação de nossos resultados. Entretanto, a ação antimicrobiana deste material pode ser correlacionada com a natureza ácida dos monômeros existentes em sua composição que são responsáveis pela inativação enzimática da membrana celular dos microrganismos (De Munk *et al.*, 2004; Van Meerbeek *et al.*, 2003).

No presente estudo, o cimento Epiphany não teve ação antimicrobiana para todos os microrganismos no tempo imediato, 24 h, 7 e 14 dias após a espatulação. Houve formação de um halo de inibição frente a *C. albicans* e ao *A. naeslundii* no período de 48 h após a espatulação.

Em nosso trabalho não observamos formação de halo de inibição do Epiphany frente ao *E. faecalis* em nenhum dos tempos testados. Bodrumlu & Smiz (2006) utilizando a mesma metodologia para testarem a atividade antimicrobiana do cimento Epiphany e de outros 5 cimentos (Diaket, Endomethasone, AH 26, Sealapex e Sultan) frente ao *E. faecalis* concluíram que o Epiphany apresentou uma atividade antimicrobiana inferior aos cimentos estudados, não inibindo o crescimento microbiano. Estes autores ressaltam que a ação antimicrobiana mínima deste cimento é relacionada à sua característica hidrofílica.

Em relação ao cimento AH Plus, foi encontrado em nosso trabalho alguma ação antimicrobiana no tempo imediato, 24 h, 48 h e 7 dias contra

diferentes microrganismos. Entretanto nenhuma ação foi observada no período de espatulação após 14 dias.

A atividade antimicrobiana do AH Plus, observada no presente estudo está de acordo com os trabalhos de Gomes et al. (2004) e Miyagak *et al.* (2006). Gomes *et al.*, 2004, ao avaliarem a ação antibacteriana do AH Plus, do Endo Fill, do Endométhasone N e do Sealer 26 através desta mesma metodologia concluíram que o cimento AH Plus apresentou alguma ação antimicrobiana, mas não inibiu totalmente o crescimento dos microrganismos testados (*C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. sanguis* e *A. naeslundii*). Reportaram também que sua atividade antimicrobiana decresceu com o passar do tempo.

Em relação ao *E. faecalis* houve formação de um pequeno halo de inibição no tempo imediato, 48 h e 7 dias após a espatulação, o que está em desacordo com o trabalho de Mickel *et al.*, (2003). Estes autores, ao avaliarem a ação antimicrobiana do AH Plus frente ao *E. faecalis*, concluíram que este cimento não apresentou atividade antimicrobiana, não formando zona de inibição no período de 24 e 48h de leitura.

Kaplan *et al.*, (1999) justificaram a não formação do halo de inibição devido a ausência do formaldeído na composição do AH Plus, p que torna este cimento ineficaz contra o *E. faecalis*. Esta ausência do formaldeído na composição deste cimento é discutida, sendo que o fabricante e alguns autores como Kaplan et al. (1999) reportam esta ausência, enquanto outros mencionam

sua liberação após espatulação (Cohen & Burns, 2000; Huang *et al.*, 2004; Milétic *et al.*, 2005; Eldeniz *et al.*, 2007).

Ao analisarmos os resultados obtidos nessas duas metodologias (contato direto e difusão em Agar), podemos concluir que nenhum dos cimentos estudados foi 100% efetivo frente aos microrganismos testados. No caso do AH Plus, os resultados sugerem que ação antimicrobiana imediata e até 24 h após a espatulação pode estar relacionada com a dissolução do cimento. Por outro lado, em relação ao Epiphany a grande dissolução do cimento promove crescimento microbiano, provavelmente devido a liberação de monômeros hidrofílicos.

A menor ou maior atividade antimicrobiana não contra-indica a utilização dos cimentos endônticos e sim a ausência de um conjunto de propriedades básicas aos cimentos, necessárias para a obtenção de uma obturação endodôntica com qualidade.

6.2 MICROINFILTRAÇÃO CORONÁRIA

A presença de microrganismo, assim com a recontaminação do sistema de canais radiculares é um fator decisivo no prognóstico da terapia endodôntica. A prevenção da infecção ou a eliminação dos microrganismos envolve uma combinação de fatores que levam ou mantem a sanificação do sistema de canal radicular.

A completa obturação do canal radicular com um material inerte, e o uso de um cimento com boa capacidade seladora, que não interfira, mas preferencialmente estimule o processo de reparo, aliados a uma ação antimicrobiana tem sido um dos objetivos da Endodontia.

A microinfiltração bacteriana foi o modelo de estudo utilizado neste trabalho para verificar a capacidade de selamento do cimento AH Plus associado ao cone de Guta-Percha e do sistema Epiphany.

Todo o grupo do controle positivo apresentou a microinfiltração em até 24 horas do início do teste. Além disso, nenhuma amostra do grupo de controle negativo teve algum sinal de infiltração, demonstrando assim a eficácia do aparato utilizado.

Bactérias facultativas como o *E. faecalis* são predominantes nos casos de insucesso do tratamento endodôntico, principalmente devido a resistência deste microrganismo à terapia endodôntica (Gomes *et al.* 1996b, 2004). Por este motivo, este microrganismo foi utilizado neste trabalho.

Em nosso trabalho, o cimento AH Plus/Guta-Percha apresentou menores índices de infiltração quando comparado ao Epiphany/Resilon, sendo a diferença estatisticamente significativa ($p=0,023$). Resultados semelhantes foram encontrados na literatura (Onay *et al.*, 2006; Baumgartner *et al.*, 2007).

Em relação a capacidade de prevenção da infiltração coronária, temos autores que reportam a superioridade do AH Plus/ guta-percha sobre o Epiphany/ Resilon (Onay *et al.*, 2006; Baumgartner *et al.*, 2007 e o presente estudo). Outros que afirmam que o sistema Epiphany é equivalente, mas não superior ao selamento realizado pelo AH Plus/Guta-Percha (Tay *et al.*, 2005; Biggs *et al.*, 2006). E temos também aqueles que relatam a superioridade do sistema Epiphany sobre o AH Plus/Guta-Percha (Shipper *et al.*, 2004, 2005; Stratton *et al.*, 2006; Tunga & Bodrumlu, 2006; Veríssimo *et al.*, 2007).

Em nosso trabalho, os dentes obturados com o sistema Epiphany não sofreram polimerização para a obtenção do selamento imediato na porção coronária, pois a mesma não utilizada em nenhum dos métodos realizados no presente estudo, com o intuito de simular as condições próximas a região periapical dos dentes, onde não ocorre a fotopolimerização pela ação da luz e sim

uma possível polimerização química. Além disso, o estresse causado durante o processo de fotopolimerização pode reduzir a força de adesão do cimento à parede dentinária, aumentando o risco da microinfiltração (Sly *et al.*, 2007).

Entretanto os dentes foram envolvidos em gases umedecidas e mantidos no interior da câmara de anaerobiose, dentro de placas de petri estéreis e tampadas, na temperatura de 37°C, num período de 14 dias, para permitir a presa do cimento, conforme o relatado por Shipper *et al.* (2004). No manual de instrução do sistema Epiphany, o fabricante ressalta que a utilização da fotopolimerização na superfície coronária por 40 segundos é para criar um selamento imediato, e que a sua auto-polimerização total se dará em 25 minutos após sua espatulação. Já Nielsen *et al.* (2007) ressaltam que a completa presa do cimento Epiphany varia de 30 minutos a 7 dias, dependendo das condições ambientes. Desta forma o período de 14 dias seria o suficiente para a presa total do cimento.

Com os resultados obtidos em nossa pesquisa, assim como os apresentados pelos autores descritos anteriormente, fica evidenciado que a capacidade seladora dos cimentos, responsável por evitar a microinfiltração coronária e apical, assume um papel importante no sucesso da terapia endodôntica.

6.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA RESIDUAL DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS AUXILIARES TESTADAS SOBRE CONES DE GUTA-PERCHA E RESILON.

Um dos objetivos primários da terapia endodôntica é a eliminação dos microrganismos existente no interior do sistema de canal radicular, assim como a prevenção de sua recontaminação. As infecções microbianas podem ser erradicadas pelos procedimentos biomecânicos (Siqueira *et al.*, 2002). Entretanto, em contraste com este cuidado em sanificar o sistema de canal radicular, a gutapercha é usualmente utilizada diretamente de sua embalagem, sem a preocupação de sua esterilidade (Souza *et al.*, 2003).

A desinfecção dos cones de gutapercha tem sido considerada desnecessária por estes serem produzidos dentro de condições assépticas e por possuírem propriedades antimicrobianas (Moorer & Genet, 1982).

Gomes *et al.* (2005) demonstraram que os cones de gutapercha podem ser contaminados durante manipulação. Este estudo mostrou que 100% dos cones manipulados com luvas, mesmo quando retirados de sua embalagem cuidadosamente, apresentaram crescimento microbiano. Os cones podem ser contaminados por aerossóis ou fontes físicas durante o processo de estocagem (Motta *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2005). Desta forma, se faz necessária a sua desinfecção antes da utilização na obturação endodôntica.

Os cones não podem ser esterilizados pelo calor. Portanto, agentes químicos devem ser utilizados na clínica endodôntica como uma maneira prática de manter os cones principais e acessórios livres de microorganismos (Gomes *et al.*, 2005; Duman *et al.*, 2007). Agentes químicos com amplo espectro de ação têm sido enfatizados por muitos autores para a desinfecção de cones (Cardoso *et al.*, 2000; Motta *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2005). Para que o agente químico seja considerado efetivo na desinfecção de determinados materiais, ele deve possuir a habilidade de eliminar microorganismo resistentes em concentrações de 10^7 - 10^8 CFU mL⁻¹ (Senia *et al.*, 1975).

Porphyromonas gingivalis, são bacilos anaeróbios estritos Gram-negativos, que são encontradas em cerca de 50% das infecções endodônticas, estando relacionados na maioria das vezes com a sintomatologia dolorosa, formação de fístula e odor fétido (Haapasalo *et al.* 1986; Gomes *et al.*, 2004).

Sundqvist *et al.* (1989) reportaram a presença de BPPN em cerca de 30% dos canais radiculares e que a presença de *P. gingivalis* em infecções mistas é essencial para o desenvolvimento de inflamações perirradiculares purulentas.

Enterococcus faecalis são cocos facultativos anaeróbios Gram-positivos, responsáveis por cerca de 80-90% de infecções enterococais em humanos, sendo a espécie de enterococos mais prevalente nos canais radiculares (Molander *et al.*, 1998, Sundqvist *et al.*, 1998). Estão relacionados com lesões

periapicais resistentes e ao insucesso do tratamento endodôntico (Gomes *et al.*, 2001; Love, 2001; Peciulienė *et al.*, 2001).

E. faecalis e *P. gingivalis* foram selecionados para este trabalho devido sua prevalência nas infecções endodônticas e resistência à terapia endodôntica (Mayrand & Holt, 1988; Molander *et al.*, 1998). Estes microrganismos são utilizados em vários estudos de eficácia de irrigantes endodônticos (Vianna *et al.*, 2004; Sena *et al.*, 2006; Berber *et al.*, 2006), assim como em estudo de desinfecção de cones (Gomes *et al.*, 2005; Royal *et al.*, 2007; Dumani *et al.*, 2007) e por esse motivo foram utilizadas nesse trabalho.

As substâncias químicas auxiliares testadas no presente estudo foi o hipoclorito de sódio (NaOCl) 5,25% e Clorexidina gel 2%. Apesar de sua eficácia na desinfecção de cones de guta-percha e resilon, frente a vários microrganismos, terem sido demonstradas em muitas pesquisas (Motta *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2005; Dumani *et al.*, 2007; Royal *et al.*, 2007), o NaOCl na concentração de 5.25% foi incapaz de se ligar aos componentes dos cones de guta-percha e resilon e demonstrar ação antimicrobiana residual, não formando halo de inibição em nenhum dos períodos testados.

A clorexidina (2%) na forma gel tem demonstrado ser eficiente em eliminar formas vegetativas em curtos períodos de tempo. Entretanto, este agente não é capaz de eliminar alguns esporos (Siqueira *et al.*, 1998; Valois *et al.*, 2005).

Sua característica catiônica permite sua adsorção aos componentes minerais da dentina (Rölla & Schiott, 1970; Dametto *et al.*, 2005).

Este estudo demonstrou uma inibição no crescimento do *E. faecalis* quando os cones de Resilon foram imersos em 2%CHX gel, nos períodos de 10, 20 e 30 min. Isto pode ter acontecido pela união da molécula de clorexidina à fase mineral do cone de Resilon.

Para que nós tivéssemos certeza de que esta ação não fosse consequência de restos de clorexidina aderidos às irregularidades dos cones, estes sofreram abundante lavagem antes de sua colocação sobre a placa de Agar. Além destes cuidados, os cones que ficaram em contato com a clorexidina nos tempos iniciais não produziram zonas de inibição. Além disso, o natrosol que é o veículo da clorexidina, é solúvel em água (Ferraz *et al.*, 2001), tendo sido facilmente removido das amostras após extenso enxágüe que estas sofreram.

A relevância clínica da liberação da clorexidina dos cones endodônticos está relacionada ao efeito antimicrobiano imediato durante o período de obturação, sendo a substância química mais indicada para a desinfecção dos cones de Resilon.

6.4 AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS DA SUPERFÍCIE DOS CONES EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)

Os agentes testados neste trabalho possuem diferentes espectros e eficácia antimicrobiana. Estudos demonstram que sua efetividade está diretamente relacionada com sua concentração e o período de contato (Ísci *et al.*, 2006). Por um outro lado, se esses agentes forem utilizados por longos períodos eles podem alterar a superfície dos cones, ou em algumas situações danificar toda a estrutura do material (Moller *et al.*, 1985; Valois *et al.*, 2004 e 2005). Estas alterações vão desde um aumento na profundidade das irregularidades encontradas nas superfícies dos cones, até num aumento de sua elasticidade (Valois *et al.*, 2005). Irregularidades profundas podem criar grandes espaços entre a superfície do cone e a parede do canal radicular, aumentando o risco de infiltrações (Goldberg *et al.*, 1991). Assim como o aumento na elasticidade do cone pode ocasionar dificuldades durante os procedimentos de obturação, principalmente em canais curvos (Moller & Orstavik, 1985).

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) foi o instrumento utilizado, neste trabalho, para avaliar possíveis alterações estruturais na superfície dos cones após o contato com as soluções químicas testadas. Após análise no MEV, nenhuma alteração estrutural foi encontrada na superfície dos cones de guta

percha e resilon após o período de imersão nas substâncias químicas testadas: 5.25% NaOCl, 2%CHX gel e solução salina.

Valois *et al.* (2005) analisando a alteração estrutural de cone de guta-percha após o contato com 5.25% NaOCl, 2%CHX, através do uso do AFM (*atomic force microscopy*), relataram que 2% CHX não causou deterioração na estrutura dos cones, enquanto que 5.25% NaOCl causou alterações estruturais, modificando a elasticidade, após 1 minuto de contato. Após 10 min de contato, quando comparado a uma espécime que não sofreu tratamento com NaOCl 5.25%, foi observado uma deterioração da superfície. Esta deterioração também foi relatada em outras pesquisas que estudaram alterações na superfície de materiais após contato com NaOCl (Yamauti *et al.*, 2003; Yokoyama *et al.*, 2004). Isci *et al.* (2006) relataram que tanto a 2%CHX como o 5.25% NaOCl causaram alterações físicas nos cones de Resilon após um período de 5 min.

Short *et al.* (2003) demonstraram que após o uso do NaOCl nas concentrações de 2.5% e 5.25% foram encontrados cristais de cloreto aderidos a superfície de cones. Em nosso estudo, a presença destes cristais não foi observada através da análise do MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura) nos cones de guta-percha, assim como nos cones de Resilon. Este fato está relacionado a lavagem que os cones passaram após a imersão.

Desta forma sugerimos que todos os cones sejam desinfetados com uma substância atividade antimicrobiana efetiva e imediata e que após o tempo de

imersão estes sejam abundantemente lavados em solução inerte estéril para remoção de possíveis resíduos que possam vir a interferir na adesão do cimento.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, nas condições experimentais deste estudo, cumpre-nos concluir que:

- O cimento AH Plus apresentou maior ação antimicrobiana em comparação ao cimento Epiphany e demonstrou ser superior quanto à prevenção da microinfiltração coronária,
- As substâncias químicas auxiliares usadas na desinfecção dos cones de guta-percha e de Resilon não apresentaram ação residual nos cones de guta-percha e nem alteraram a superfície dos dois tipos de cones testados.
- O cone de Resilon apresentou ação antibacteriana residual quando exposto à clorexidina gel.

8 REFERÊNCIAS

1. Aas J.A., Paster B.J., Stokes L.N., Olsen I., Dewhirst F.E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5721-32.
 2. Al-Kathar N, Kunzelmann KH, Hickel R. Apical leakage of new root canal sealers. *J Dent Res.* 1995;74: 945.
 3. Almeida WA. 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. Tese de Doutorado-Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP., 1997;117.
- Baumgartner G, Zehnder M, Paqué F. Enterococcus faecalis type strain leakage through root canals filled with gutta-percha/AH Plus or Resilon/Epiphany. *J Endod.* 2007; 33:45-7.
- Baumgartner JC, Falker Jr WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canal. *J Endod.* 1991; 17: 380-3.
- Berber VB, Gomes BPFA, Sena NT, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Efficacy of various concentrations of NaOCl and instrumentation techniques in reducing Enterococcus faecalis within root canal and dentinal tubuls. *J Endod.* 2006; 39:10-7
- Berbert A, Bramante CM, Bernadinelli N. Endodontia Pratica. São Paulo Sarvier. 1980:76-8.

- Biggs SG, Knowles KI, Ibarrola JL, Pashley DH. An in vitro assessment of the sealing ability of resilon/epiphany using fluid filtration. *J Endod.*2006;32:759-761.
- Bodrumlu E, Semiz M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. *J Can Dent Assoc.*2006;72:637.
- Bouillaguet S, Wataba JC, Tay FR, Brackett MG, Lockwood PE, Initial *In vitro* biological response to contemporary endodontic sealers. *J Endod.* 2006; 32:989-92.
- Bowman. *Apud:* Soler RM, Shocron ML. Endodoncia. *Rosário.La Médica.*1957;305.
- Bodrumlu E, Semiz M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. *J Can Dent Assoc.* 2006;72:637.
- Branstetter J, Fraunhofer JA. The physical properties and sealing action of endodontic sealer cements: a review of the literature. *J Endod.* 1982; 8(7): 312-6.
- Camargo CHR. Avaliação in vitro da citotoxicidade e genotoxicidade de cimentos endodônticos em diferentes linhagens celulares.Tese de Livre – Docência.Faculdade de Odontologia de São José dos Campos.2008.
- Cardoso CL, Redmerski R, Bittencourt NLR, Kotaka CR. Effectiveness of different chemical agents in rapid decontamination of gutta-percha cones. *Brazil J Microbiol.*2000;31:67-71.

- Carvalho-junior JR, Guimarães LFL, Correr-Sobrinho L, Pércora JD, Sousa-Neto MD. Evaluation of solubility, disintegration, and dimensional alterations of a glass ionomer root canal sealer. *Braz Dent J*. 2003;14:2
- Carroto P. Endodontics: Part 8 Filling the root canal system. *British Dent J*. 2004;197:667-669.
- Cervone F, Tronstad L, Hammond B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. *Endod Dent Traumatol*. 1990; 6; 33-6.
- Chivian N. Resilon- the missing links in sealing the root canal. *Compendium*. 2004; 25:823-5.
- Chong BS, Owadally ID, Pitt Ford TR, Wilson RF. Antibacterial activity of potential retrograde root filling materials. *Endod Dent Traumatol*. 1994;10:66-70.
- Çobankara FK, Altinöz HC, Erganis O, Kav K, Belli S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. *J Endod*. 2004; 30:57-60.
- Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Dentsch AS. Evaluation of the release of formaldehyde for three endodontic filling materials. *Oral Health*. 1998; 88:37-9.
- Cohen S, Burns RC. Caminhos da polpa. 7ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 2000:838.
- Cohen S, Hargraves KM. Caminhos da polpa. 9ed. Rio de Janeiro, Mosby Elsevier. 2007:358.
- Cortez DGN. Estudo in vitro do selamento, densidade radiográfica e tempo operatório de técnicas de obturação endodôntica. 2002 Dissertação (Doutorado em Clínica Odontológica [Piracicaba])-Universidade Estadual de Campinas.

- Dahlén G, Samuelsson W, Moander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol.* 2000; 15: 775-12.
- Dametto FR, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Endod.* 2005;99:768-72.
- Da Motta PG, de Figueiredo CBO, Maltos SMM, Nicoli IR, Ribeiro Sobrinho AP, Maltos KLM, Carvalhais HPM. Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *Int. Endod. J.* 2000; 34: 435-9.
- De Deus QD. Endodontia. 5 ed. Rio de Janeiro. *Medsa.* 1992:441.
- De Deus G, Gurgel Filho ED, Ferreira CM, Coutinho Filho T. Intratubular penetration of root canal sealers. *Pesqui. Odontol. Bras.* 2002;16:332-6.
- De Munck J, Landuyt V, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Meerbeek V. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: Methods and results. *J Dent Res.* 2004;27:118-32.
- Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002; 28:689-693
- Donnelly A, Sword J, Nishitani Y. Water sorption and solubility of methacrylate resin-based root canal sealers. *J Endod.* 2007;33:990-4.
- Dumani A, Yoldas O, Isci AS, Köksal F, Kayar B, Polat E. Disinfection of artificially contaminated Resilon cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite at

- different time exposures. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Endod.*2007;103:82-85.
- Egan MW, Spratt DA, Ng YL, Lam JM, Moles DR, Gulabivala K. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2002; 35: 321-9.
- Eldeniz AU, Mustafa K, Orstavik D, Dahl JE. Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingival and L929 cell lines.*Int. Endod. J.* 2007 May;40:329-37.
- Endodontists AAO: Guide to clinical endodontics. *American Dental Association*,Chicago.2004;ed 4.
- Estrela C, Estrela CRA, Moura J, Bammann LL. Testing calcium hydroxide antimicrobial potential by different methods. *J Dent Res*, 2000; 79: 529 (IADR abstract 3081).
- Ezzie E, Fleury A, Solomon E, Spears R, He J. Efficacy of retreatment techniques for a resin-based root canal obturation material. *J Endod.* 2006; 32: 341-4.
- Fardal O, Turnbull R.S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *JADA.* 1986; 112: 863-9.
- Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod.* 2001; 7: 452-5.
- Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel,chlorhexidine solution

- and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2007; 18: 294-8.
- Ferguson, JW, Hatton, JF, Gillespie, MJ. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *J Endod.* 2002; 28: 68-71.
- Franco EB, Lopes LG, D'alpino PH, Pereira JC, Mondelli RF, Navarro MF. Evaluation of compatibility between different types of adhesives and dual-cured resin cement. *J Adhesive Dentistry.* 2002; 4:271-5.
- Geurtsen W. Biocompatibility of root canal filling materials. *Australian Endod J.* 2001; 27: 12-21.
- Goldberg F, Massone EJ, Pruskin E, Zmener O. SEM study of surface architecture of gutta-percha cones. *Endod and traumatol.* 1991; 7:15-8.
- Goldberg F, Gurfinkel J, Spilberg C. Microscopy study of standardized gutta-percha points. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1979; 47:275
- Goldman M, Pearson AH. Postdebridement bacterial flora and antibiotic sensitivities. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1969; 28:897-905
- Goodman A, Schilder H, Aldrich W. Thermomechanical properties of gutta-percha. II. The history and molecular chemistry of gutta-percha. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1974; 37:954.
- Gomes BPFA, Drucker DB, Liley JD. Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *Int Endod J.* 1996a; 29:69-75.

- Gomes BPFA, Liley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J.* 1996b; 29: 235-241.
- Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB., Teixeira FB, Souza-filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2001; 34: 424-8.
- Gomes BPFA, Sato CC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod J.* 36, 604-9. 2003.
- Gomes BPFA, Pedroso JÁ, Jacinto RC, Vianna ME, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. *Braz Dent J.* 2004; 15(1): 30-35.
- Gomes BPFA, Vianna ME, Matsumoto CU, Rossi VPS, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-filho FJ. Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; 100:512-7.
- Gomes BPFA, Berber VB, Montagner F, Sena NT, Zaia AA, Souza-filho FJ. Residual effects and surface alterations in disinfected gutta-percha cones. *Int Endod J.* 2007; 20:1-4
- Grossman LI. Antimicrobial effect of root canal cement. *J Endod.* 1980;6: 594-7.
- Grossman LI. An improved root-canal cement. *J Amer Dent Ass.* 1958; 56: 381-5.

- Gurgel-Filho ED, Feitosa JPA, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Chemical and X-ray analyses of five brands of dental gutta-percha cones. *Int Endod J*. 2003;36, 302-7.
- Gurgel-Filho ED, Feitosa JPA, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ, Teixeira FB. Assessment of different gutta-percha brands during the filling of simulated lateral canals. *Int Endod J*. 2006; 39:113-8.
- Gutmann JL, Witherspoon DE. Obturation of the cleaned and shaped root canal system. In: Cohen S, Burns RC.ed. *Pathways of the pulp*. 8th edn. St Louis: Mosby;2002.p.293-364.
- Hagihara Y, Kaminishi H, Cho T, Tanaka M, Kaita H. Degradation of human dentine collagen by an enzyme produced by the yeast *Candida albicans*. *Arch Oral Biologic*, 1988; 33: 617-9.
- Haapasalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H. Black-pigmented *Bacteroides* spp. In human apical periodontitis. *Infect Immuno*. 1986; 53:149-53
- Hauman CHJ & Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J*. 2003; 36; 75-85.
- Heil J, Reifferscheid G, Waldmann P, Leyhausen G, Geurtsen W. Genotoxicity of dental materials. *Mutat Res*. 1996;368:181-94.
- Heling I & Chandler NP. The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. *J. Endod*. 1996; 22:257.
- Hizatugu R, Valdrighi L. Endodontia - considerações biológicas e aplicação clínica. Aloise. Piracicaba. 1974; 191.

- Huang TH, Yang jj, Li H, Kao CT. The biocompatibility evaluation of epoxy resin-based root canal sealers in vitro. *Biomaterials*.2002;23:77-83.
- Huang TH, Ding SJ,Hsu TZ, Lee ZD, Kao Canal sealers induce cytotoxicity and necroses. *J. Mat. Science Materials in Med*. 2004;15:767-7.
- Imura, N. Otani S.M, campos M.J.A., Jardim Jr EG., Zuolo M.L. Bacterial penetrtrion through temporary restorative materials in root canal-treated teeth in vitro. *Int Endod J*, p.1-5,1997.
- Isçi S, Yoldas O, Dumani Aysin. Effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine solutions on Resilon (synthetic polymer based root canal filling material) cones: Na atomic force microcopy study. *J Endod*.2006; 32:967-9.
- Johansson BI. A methodological study of the mechanical propertier of endodontic gutta-percha points. *J Endod*. 1980; 6: 781- 3.
- Jung ILY, Choi BK, Lee CY, Park DS. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. *J Endod*. 2000; 26; 599-604.
- Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery*. 1965; 20: 340-9.
- Kaplan AE, Picca M, Gonzalez MI, Macchi RL, Molgatini SL. Antimicrobial effect of six endodontic sealers:na in vitro evaluation. *Endod Dent Taumatol*.1999;15:42-5.
- Kayaoglu G, Erten H, Alaçam T, Orstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2005;38:483-8.

- Kolokuris I, Beltes P, Economides N, Vlemmas I. Experimental study of the biocompatibility of a new glass ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). *J. Endod.* 1996; 22:395-8.
- Koo H, Gomes BPFA, Rosalen PL, Ambrosano GMB, Park YK, Cury JA. In vitro antimicrobial activity of propolis and arnica Montana against oral pathogens. *Arch Oral Biol.* 2000;45:141-8.
- Leal JM. Materiais obturadores de canais radiculares. In: Leonardo MR, Leal JM. Endodontia: tratamento de canais radiculares. 2 ed. São Paulo. Ed. Médica Panamericana. 1991; 348-404.
- Leonardo MR, Leal JM. Tratamento de canais radiculares. 3 ed. São Paulo. Ed. Médica Panamericana. 1998; 547-606.
- Leonardo MR, Bezerra da Silva LA, Tanomaru Filho M, Santana SR. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med and Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;88:221-5.
- Linke HAB, Chohayeb AA. Effective surface sterilization of gutta-percha points. *Oral Surg.* 1983;55:73-7.
- Lopes HP & Siqueira JR JF. Endodontia-biologia e técnica. 1ª ed. MEDSI, 1999.
- Love RM. *Enterococcus faecalis*- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001; 34: 399-405.
- Maniglia CF, Silva-Jr JBA, Paula RCM, Feitosa JPA, Cortez DGN, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Brazilian gutta-percha points. Part 1º. Chemical composition and X-ray diffraction analysis. *Braz Oral Res.* 2005; 19: 193-7.

- Mayne JR, Shapiro S, Abramson I. An evaluation of standardized gutta percha points. I. Reability and validity of standardized of gutta percha points. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.*1971; 31:250.
- Mayrand D, Holt SC. Biology of asaccharolytic black-pigmented bacterioides species. *Microbio Rev.* 1988; 52(1): 134-52.
- Mash PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology.*2003;49:279-94.
- McMichen FRS, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. *Int Endod J.* 2003; 36:629-35.
- Merdad K, Pascon AE, Kulkarni G, Santerre P, Friedman S.Short-term cytotoxicity assessment of the epiphany resin-percha obturating system by indirect end direct contact Millipore filter assays.*J. Endod.*2007;33:24-7.
- Mickel AK, Nguyen TH, Chogle S. Antimicrbila activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. *J. Endod.* 2003; 29:257.
- Milétic I, Devcic N, Anic I, Borcic I, Karlovic Z, Osmak M. The cytotoxicity of Roeko Seal and AH plus compared during different setting periods. *J Endod.* 2005;31:3079.
- Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dental Cosmos.* 1894; 36: 505-28.
- Miyagak DC, de Carvalho EM, Robazza CR, Chavasco JK, Levorato GL. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. *Braz Oral Res.*2006;21:9.

- Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1998; 31:1-7.
- Möller AJR, Fabricus L, Dahlén G, Öhman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res*, 1981; 89:475-84.
- Möller B, Orstavik D. Influence of antiseptic storage solution on physical properties of endodontic gutta-percha. *J Endod*. 1985; 93:158-61.
- Moorer WR, Genet JM. Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol*. 1982;53:503-7.
- Montgomery S. Chemical decontamination of gutta-percha cones with polyvinylpyrrolidone-iodine. *Oral Surg*. 1971; 31:258.
- Motta PG, Figueiredo CBO, Maltos SMM, Nicoli JR, Sobrinho APR, Maltos KLM, Carvalhais HPM. Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *Int Endod J*. 2001; 34:435-9.
- Myers AR, Miller LM, Pinals RS. Biology of asaccharolytic black-pigmented *Bacteroides* species. *Lancet*. 1969; 2: 714-6.
- Najzar-Fleger D, Filipovic D, Prpic G, Kobler D. *Candida* in root canal in accordance with oral ecology. *Int Endod J*. 1992; 25; 40.
- Nair PNR, Sjögreen U, Key G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. 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*. 1990; 16; 580-8.

- Nakabayashi N. The hybrid layer: a resin-dentin composite. *Proc Finn Dent Soc.* 1992; 88 (Suppl 1):321-9.
- Nielsen BA, Beeler WJ, Vy C, Baumgartner JC. Setting times of resilon and other sealers in aerobic and anaerobic environments. *J Endod.* 2006;32:130-2.
- Oliet S, Sorin SM. Effect of aging on the mechanical properties of hand-roller gutta-percha endodontic cones. *Oral Surg.* 1977; 43: 955-62.
- Oliveira DP, Barbizam JVB, Trope M, Teixeira FB. Comparison between gutta-percha and Resilon removal using two different techniques in endodontic retreatment. *J. Endod.* 2006; 32:362-4.
- Onay EO, Ungor M, Orucglu H. An in vitro evaluation of the apical sealing ability of a new resin-based root canal obturation system. *J. Endod.* 2006; 32:976-8.
- Orstavik D. Physical properties of root canal sealers: measurement of flow, working time, and compressive strength. *Int Endod J.* 1983;16:99-107.
- Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001; 34(6): 429-34.
- Pécora JD, Cussioli AL, Guerisoli DM, Marchesan MA, Souza-Neto MD, Brugnera Júnior A. Evaluation of Er:Yag laser and EDTAC on dentin adhesion of six endodontic sealers. *Braz Dent J.* 2001;12:27-30.
- Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J. Endod.* 2004; 30:559-67.
- Pizzo G, Giammanco GM, Cumbo E, Nicolosi G, Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. *J. Dent.* 2006;34:35-40.

- Radcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *actinomyces israelii*, *naeslundii*, *candida albicans* and *enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 37, 438-46, 2004.
- Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J. Enterocci in human periodontitis. *Oral Microbio Immuno.* 1992; 7: 249-52.
- Rölla G, Loe H, Schiott CR. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontal Res.* 1970; 5: 90-5.
- Rosa OP, Torres AS, Ferreira FB. In vitro effect intracanal medicaments on strict anaerobes by means of the both dilution method. *Pesqui Odontol Bras.* 2002, 16:31-6.
- Royal MJ, Williamson AE, Drake DR. Comparison of 5.25% hypochlorite, MTAD, and 2% chlorhexidine in the rapid disinfection of polycaprolactone-based root canal filling material. *J. Endod.* 2007; 33(1):42-4.
- Sagsen DDS, Ozgur ER, Kabraman Y, Orucoglu H. Evaluation of microleakage of roots filled with different techniques with a computerized fluid fluid filtration technique. *J Endod.* 2006; 32:1168-70.
- Schäfer E & Zandbiglari T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J.* 2003; 36:660-669.
- Schilder H, Goodman A, Aldrich W. The thermomechanical properties of gutta-percha. III. Determination of phase transition temperatures for gutta-percha. *Oral Surg.* 1974; 38:109-14.

- Schilder H, Goodman A, Aldrich W. The thermomechanical properties of gutta-percha as a function of temperature and its relationship to molecular phase transformation. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1985; 59:285.
- Sena NT, Gomes BPFA, Vianna ME, Berber VB, Ferraz CCR, Zaia AA, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against select single-species biofilms. *J Endod.* 2006; 39:878-85.
- Senia ES, Marraro RV, Mitchel JL, Lewis AG, Thomas L. Rapid sterilization of gutta-percha cones with 5.25% sodium hypochlorite. *J. Endod.* 1975; 1:136-40
- Serene TP, Anderson DL. Isolation of Mycoplasma from human root canals. *J. Dent. Res.* 1967; 49:395-9.
- Shah HN, Collins DM. Prevotella, a new genus to include Bacteroides melaninogenicus and related species formerly classified in the genus Bacteroides. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1990; 40:205-8.
- Shipper G, Orstak D, Teixeira FB, Trope M. An evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). *J. Endod.* 2004; 30:342-7.
- Shipper G, Teixeira FB, Arnold RA, Trope M. Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or resilon. *J. Endod.* 2005; 31:91-5.
- Short RD, Dorn SO, Kuttler S. The crystallization of sodium hypochlorite on gutta-percha cones after the rapid-sterilization technique: An SEM study. *J. Endod.* 2003; 29:670-3.

- Siqueira Jr JF, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod*, 1997; 23: 167-9.
- Siqueira Jr JF, Pereira CHFP, Cerqueira MDO, Lopes HP. Effectiveness of four chemical solutions in eliminating *Bacillus subtilis* spores on gutta-percha cones. *Endod Dent Traumatol*. 1998; 14: 124-6.
- Siqueira Jr JF, Favieri A, Gahyva SMM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod*. 2000; 26: 274-80.
- Siqueira Jr JF. Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2002; 94: 281-293.
- Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2004; 632-641.
- Siren EK, Haapasalo MPP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo ENJ. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*. 1997; 30: 91-95.
- Slutzky-Goldberg J, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, M Weis EJ, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. *J Endod*. 2008; 34: 735-8.
- Sly MM, Moore BK, Platt JA, Brown CE. Push-out bond strength of a new endodontic obturation system (resilon/epiphany). *J. Endod*. 2007; 33: 160-2.
- Souza CJA, Montes CRM, Pascon EA, Loyola AM, Versiani MA. Comparison of the intraosseus biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany root canal sealers. *J Endod*. 2006; 32: 341-4.

- Souza-Neto MD, Guimarães LF, Saquy PC, Pércora JD. Effect of different grades of resins and hydrogenated resins solubility, desintegration, and dimensional alterations of Grossman cement. *J Endod.*1999; 25:477-80.
- Souza RE, de Souza EA, Sousa-Neto, Pietro RCLR. *In vitro* evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. *Pesqui Odontol Bras.*2003;17:75-7.
- Spangberg L, Langeland K. Biologic effects of dental materials.1. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells *in vitro*. *Oral Surg.*1973;35:402-14.
- Stratton RK, Apicella MJ, Mines P. A fluid filtration comparison of gutta-percha versus Resilon, a new soft resin obturation system. *J Endod.*2006; 32:642-5.
- Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps.University of Umea, Umea, Sweden, 1976.
- Sundqvist G.Prevalence of Black-pigmented bacterioides species in root canal infections. *J Endod.*1989;15:13-9.
- Sundqvist G.Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbial Immunol.*1992a;7:257.
- Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J endodon.* 1992b; 18:427-30.
- Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg*, 1994; 78: 522-30.
- Sundqvist G, Figdor D, Person S, 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.* 1998; 85, 86-93.

- Susini G, About I, Tran-Hung L, Camps J. Cytotoxicity of Epiphany and Resilon with a root model. *Int. Endod. J.*2006;39:940-4.
- Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J.*2002; 35: 735-9.
- Tay FR, Loushine RJ, Weller RN. Ultrastuctural evaluation of the apical seal in root filled with a polycaprolactone-based root canal filling material. *J Endod.*2005;31:514-9.
- Teixeira FB, Teixeira ECN, Thompson JY, Leinfelder KF, Trope M. Dentinal bonding reaches the root canal system. *J Esthet Dent.*2004;16:1-7.
- Thilo BE; Baehni P; Holz J. Darkfield observation of bacterial distribution in root canals following pulp necrosis. *J Endod*, 1986; 12:202-5.
- Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan W. Bacterial coronal leakage after three root canal sealers. *J Endod*, 2001;27:36-9.
- Tobias RS. Antibacterial proprieties of dental restorative materials:a review. *Int Endod J.*1988;21:155-60.
- Torabinejad M., Ung B., Kettering J.D. *In vitro* bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treatd teeth. *J Endodon.*1990;16:.566-9.
- Tunga Umut, Bodrumlu E. Assessment of the sealing ability of a new root canal obturation material. *J Endod*;32:876-8.
- Valois CRA, Silva LP, Azevedo RB, Costa ED. Atomic force microscopy study of gutta-percha cone topography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Endod.*2004;98:250-5.

- Valois CRA, Silva LP, Azevedo RB. Effects of 2% chlorhexidine and 5.25% sodium hypochlorite on gutta-percha cones studied by atomic force microscopy. *Int Endod J*. 2005; 425-9.
- Van Meerbeek B, De Munk J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P. Buonocore memorial lecture: adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003;28:215-35.
- Van der Burgt TP, Plasschaert AJ. Tooth discoloration induced by dental materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1985;60:666.
- Verríssimo DM, Vale MS, Monteiro AJ. Comparison of apical leakage between canals filled with gutta-percha/AH-Plus and the Resilon/Epiphany system, when submitted to two filling techniques. *J Endod*;33:291-4.
- Versiani MA, Carvalho-junior JR, Padilha MIA, Lacey S, Pascon EA, Souza-Neto MD. A comparative study of physicochemical properties of AH Plus and Epiphany root canal sealants. *Int Endod J*. 2006; 39:464-471.
- Vianna ME. Atividade antimicrobiana de alguns medicamentos utilizados como irrigantes e medicações intracanaís. 2002.293p. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica [Piracicaba])-Universidade Estadual de Campinas.
- Vianna ME, Gomes BPFA, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Endod*. 2004;97:79-84.
- Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BPFA, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single-or multiple-visit root

- canal treatments carried out after single-or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Int Endod J.* 2005; 38:697-704.
- Xia T, Baumgartner JC. Occurrence of Actinomyces in infections of endodontic origin. *J. Endod.* 2003;29:549-52.
- Zamany A, Safavi K, Spangberg LSW. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Endod.* 2003;96:578-81.
- Waltimo TMT, Sirén EK, Torkko HLK, Olsen I, Haapasalo MPP. Fungi in therapy-resistant apical periodontics. *Int Endod J.* 1997; 30:96-101.
- Waltimo TMT, Sirén EK, Orstavik D, Haapasalo MPP. Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide *in vitro*. *Int Endod J.* 1999; 32:94-8.
- Weine FS, Wax AH, Wenckus CS. Retrospective study of tapered, smooth post systems in place for 10 years or more. *J Endod.* 1991; 17(6): 293-7.
- Weine FS. Endodontic therapy. 5 th ed. ST. Louis: Mosby, 1996.
- Weis E, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by direct contact test. *Endod Dent Traumatol.* 1996;12:179-84.
- White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod.* 1997; 229-31.
- Yamauti M, Hashimoto M, Sano H. Degradation of resin-dentin bonds using NaOCl storage. *Dental Materials:* 2003; 399-405.
- Yokoyama K, Kancko K, Yabuta E, Asaoka K, Sakai J. Fracture of nickel-titanium superelastic alloy in sodium hypochlorite solution. *Materials Science and Engineering:* 2004;43-8.

ANEXO

	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	
CERTIFICADO		
O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Estudo in vitro da atividade antimicrobiana e infiltração coronária de cimentos obturadores de canais radiculares", protocolo nº 079/2007, dos pesquisadores BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES e NEYLLA TEIXEIRA SENA, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 07/11/2007.		
The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "In vitro study of the antimicrobial activity and evaluation of the coronary microleakage of root canal sealers", register number 079/2007, of BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES and NEYLLA TEIXEIRA SENA, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 07/11/2007.		
 Profa. Cinthia Pereira Machado Tabchoury Secretária CEP/FOP/UNICAMP	 Prof. Jaks Jorge Júnior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP	
Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.		

APÊNDICE

Tabela 23: Resumo do experimento realizado com o *Actinomyces naeslundii*.

	Imediato		24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	
Tamanho da amostra	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57
Mínimo	8.70	2.20	74.30	2.10	69.90	2.10	8.90	2.10	71.20	2.10	8.90
Máximo	23.10	9.90	84.90	8.10	88.70	6.90	76.40	11.30	85.50	12.60	89.80
Amplitude	14.40	7.70	10.60	6.00	18.80	4.80	67.50	9.20	14.30	10.50	80.90
Mediana	12.90	2.60	82.10	2.30	80.30	2.60	50.90	2.30	80.90	2.30	50.90
Primeiro Quartil	10.40	2.50	78.60	2.20	77.40	2.50	12.00	2.30	78.10	2.20	22.60
Terceiro Quartil	15.50	2.90	82.50	2.40	84.40	2.70	69.40	2.40	81.90	2.40	68.90
Desvio Interquartilico	5.10	0.40	3.90	0.20	7.00	0.20	57.40	0.10	3.80	0.20	46.30
Média Aritmética	13.29	3.03	80.86	2.59	80.64	2.83	42.32	2.81	80.06	2.83	45.52
Variância	13.29	2.42	7.41	1.63	24.77	0.95	700.51	3.75	10.70	4.71	662.19
Desvio Padrão	3.65	1.56	2.72	1.28	4.98	0.97	26.47	1.94	3.27	2.17	25.73
Erro Padrão	0.48	0.21	0.36	0.17	0.66	0.13	3.51	0.26	0.43	0.29	3.41
p-valor (normalidade)	0.0061	< 0.0001	0.0224	< 0.0001	0.4112	< 0.0001	0.0908	< 0.0001	0.0666	< 0.0001	0.1638
Heterocedasticidade	Sim		Não		Sim		Sim		Não		
p-valor (AH-Pus x Resilon)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		
p-valor (AH-Pus x Controle)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		
p-valor (Resilon x Controle)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		

Tabela 24: Resumo do experimento realizado com o *Enterococcus faecalis*.

	Imediato		24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	
Tamanho da amostra	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57
Mínimo	8.80	2.40	13.00	2.20	15.90	2.60	10.50	2.00	71.90	2.00	17.90
Máximo	61.30	4.30	82.40	9.40	59.10	25.00	92.50	7.30	94.00	8.60	91.90
Amplitude	52.50	1.90	69.40	7.20	43.20	22.40	82.00	5.30	22.10	6.60	74.00
Mediana	10.90	2.60	14.80	2.30	16.90	3.70	15.30	2.20	89.00	2.20	20.70
Primeiro Quartil	9.80	2.50	14.00	2.30	16.40	3.20	14.60	2.10	84.50	2.10	19.50
Terceiro Quartil	34.50	2.70	17.60	2.40	17.50	4.20	54.80	2.20	90.90	2.20	23.80
Desvio Interquartilico	24.70	0.20	3.60	0.10	1.10	1.00	40.20	0.10	6.40	0.10	4.30
Média Aritmética	21.95	2.75	24.11	2.59	20.53	4.49	32.48	2.35	86.53	2.45	30.09
Variância	313.43	0.22	430.12	1.18	116.80	11.93	843.54	0.85	40.34	1.54	482.79
Desvio Padrão	17.70	0.47	20.74	1.08	10.81	3.45	29.04	0.92	6.35	1.24	21.97
Erro Padrão	2.35	0.06	2.75	0.14	1.43	0.46	3.85	0.12	0.84	0.16	2.91
p-valor (normalidade)	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Heterocedasticidade	Sim		Sim		Sim		Sim		Sim		
p-valor (AH-Pus x Resilon)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		
p-valor (AH-Pus x Controle)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		
p-valor (Resilon x Controle)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		

Tabela 25: Resumo do experimento realizado com a *Candida albicans*.

	Imediato		24 horas		48 horas		7 dias AH		14 dias		
	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	Controle
Tamanho da amostra	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57
Mínimo	38.20	2.10	11.75	2.20	18.40	2.80	18.60	2.10	34.40	2.00	31.70
Máximo	68.90	2.60	85.10	17.50	84.10	19.70	91.20	24.90	90.30	7.90	95.30
Amplitude	30.70	0.50	73.35	15.30	65.70	16.90	72.60	22.80	55.90	5.90	63.60
Mediana	48.50	2.30	61.30	2.40	55.50	3.50	49.20	2.20	42.60	2.20	73.30
Primeiro Quartil	44.30	2.20	34.20	2.30	31.80	3.30	20.60	2.20	36.10	2.20	38.30
Terceiro Quartil	56.60	2.40	80.70	2.40	80.70	4.40	84.90	2.30	80.90	2.30	88.40
Desvio Interquartilico	12.30	0.20	46.50	0.10	48.90	1.10	64.30	0.10	44.80	0.10	50.10
Média Aritmética	51.19	2.30	57.44	3.05	54.20	4.23	53.81	3.01	55.75	2.50	64.45
Variância	69.75	0.01	486.55	8.39	595.68	5.70	878.45	13.02	445.81	1.29	582.19
Desvio Padrão	8.35	0.10	22.06	2.90	24.41	2.39	29.64	3.61	21.11	1.14	24.13
Erro Padrão	1.11	0.01	2.92	0.38	3.23	0.32	3.93	0.48	2.80	0.15	3.20
p-valor (normalidade)	0.0721	0.5225	0.1208	< 0.0001	0.1155	< 0.0001	0.0989	< 0.0001	0.0611	< 0.0001	
Heterocedasticidade	Sim		Sim		Sim		Sim		Sim		
p-valor (AH-Pus x Resilon)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		
p-valor (AH-Pus x Controle)	ns		ns		ns		ns		ns		
p-valor (Resilon x Controle)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		

Tabela 26: Resumo do experimento realizado com o *Staphylococcus aureus*.

	Imediato		24 horas		48 horas		7 dias		14 dias		Controle
	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	AH Plus	Resilon	
Tamanho da amostra	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57	57
Mínimo	17.90	1.90	81.90	16.60	13.20	6.50	13.50	5.90	14.40	5.90	14.50
Máximo	44.20	2.90	89.70	75.90	87.50	67.00	87.90	50.40	89.50	70.20	91.90
Amplitude	26.30	1.00	7.80	59.30	74.30	60.50	74.40	44.50	75.10	64.30	77.40
Mediana	30.10	2.00	85.80	21.30	15.10	8.20	15.50	7.60	16.40	8.90	15.90
Primeiro Quartil	22.00	2.00	84.90	18.20	14.40	7.40	14.60	6.90	15.40	7.80	15.20
Terceiro Quartil	37.70	2.30	86.30	53.40	20.50	11.60	19.90	12.80	24.50	18.00	21.80
Desvio Interquartilico	15.70	0.30	1.40	35.20	6.10	4.20	5.30	5.90	9.10	10.20	6.60
Média Aritmética	30.28	2.17	85.60	33.99	27.05	15.85	26.62	13.41	27.92	17.04	29.09
Variância	68.33	0.06	1.79	436.33	583.60	268.91	558.82	152.10	521.71	307.41	667.81
Desvio Padrão	8.27	0.24	1.34	20.89	24.16	16.40	23.64	12.33	22.84	17.53	25.84
Erro Padrão	1.09	0.03	0.18	2.77	3.20	2.17	3.13	1.63	3.03	2.32	3.42
p-valor (normalidade)	0.2077	< 0.0001	0.2269	0.0062	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Heterocedasticidade	Sim		Sim		Não		Não		Não		
p-valor (AH-Pus x Resilon)	< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		< 0.05		
p-valor (AH-Pus x Controle)	< 0.05		< 0.05		ns		ns		ns		
p-valor (Resilon x Controle)	< 0.05		ns		< 0.05		< 0.05		< 0.05		

Tabela 27: *Actinomyces naeslundii* – Imediato

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Primer		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	Dp
0	22.800	0.436	9.400	0.500	7.200	0.100	87.100	3.764
1	18.700	0.100	2.900	0.400	13.700	0.200	77.367	1.305
2	16.500	0.400	2.600	0.361	7.700	0.608	75.433	1.662
3	17.600	0.985	2.600	0.361	7.367	0.503	72.233	1.818
4	14.600	0.721	2.500	0.265	6.633	0.321	69.967	0.929
5	12.000	0.100	2.600	0.265	6.300	0.520	66.400	2.052
6	13.000	0.100	2.500	0.173	6.200	0.529	62.367	3.516
7	15.900	0.400	2.500	0.173	5.900	0.346	57.867	0.404
8	14.200	0.624	2.500	0.173	6.200	0.346	52.800	1.735
9	12.933	0.153	2.500	0.173	5.900	0.819	51.367	0.651
10	13.300	0.265	2.500	0.173	5.800	0.794	46.100	1.970
11	10.600	0.265	2.400	0.173	5.500	0.400	30.800	1.652
12	11.500	0.100	2.400	0.173	5.500	0.400	24.933	2.873
13	10.500	0.608	2.500	0.000	5.400	0.100	23.133	0.757
14	10.100	0.265	2.500	0.000	5.400	0.100	22.500	0.721
15	10.500	0.200	2.900	0.200	5.400	0.100	13.567	1.701
16	9.800	0.361	3.200	0.300	5.400	0.100	11.800	0.557
17	9.000	0.265	3.100	0.200	6.100	0.100	9.733	0.666
18	8.900	0.173	3.433	0.231	5.400	0.100	9.467	0.513

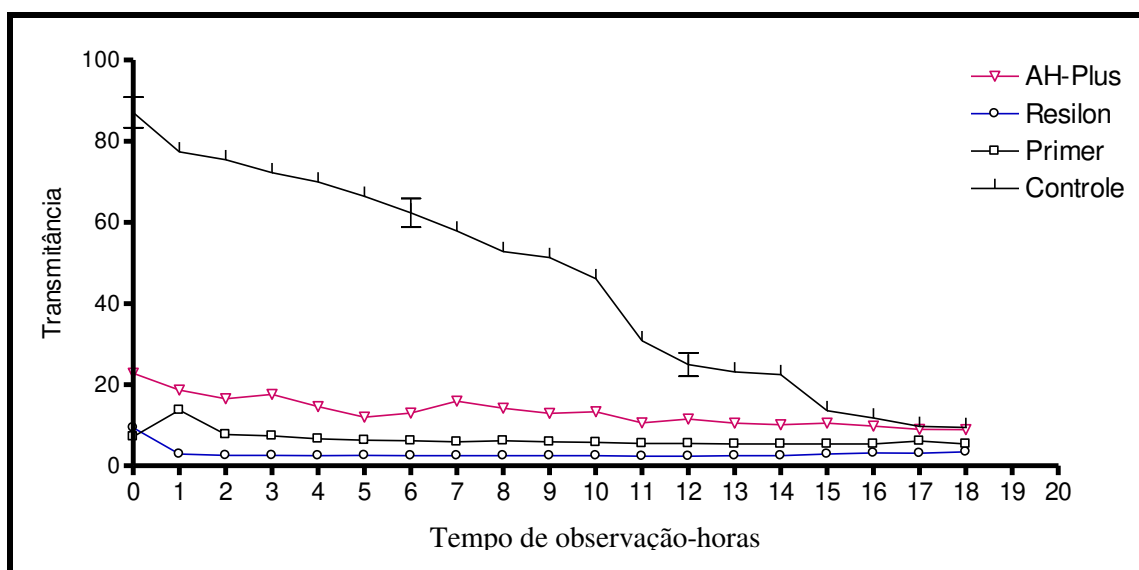


Figura 19: *Actinomyces naeslundii* - Imediato

Tabela 28: *Actinomyces naeslundii* - 24h

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	74.800	0.458	7.900	0.200	87.100	3.764
1	81.900	0.889	2.500	0.265	77.367	1.305
2	76.300	0.529	2.800	0.265	75.433	1.662
3	77.200	0.361	2.400	0.100	72.233	1.818
4	82.800	0.265	2.400	0.100	69.967	0.929
5	84.500	0.265	2.300	0.100	66.400	2.052
6	82.300	0.624	2.300	0.100	62.367	3.516
7	78.000	0.721	2.300	0.100	57.867	0.404
8	84.100	0.800	2.300	0.100	52.800	1.735
9	82.800	0.346	2.200	0.100	51.367	0.651
10	82.700	0.436	2.200	0.100	46.100	1.970
11	80.600	0.173	2.300	0.200	30.800	1.652
12	81.900	0.500	2.200	0.000	24.933	2.873
13	81.900	0.500	2.200	0.000	23.133	0.757
14	82.300	0.200	2.100	0.000	22.500	0.721
15	82.300	0.200	2.200	0.000	13.567	1.701
16	79.900	0.100	2.200	0.000	11.800	0.557
17	77.800	0.265	2.300	0.173	9.733	0.666
18	82.300	0.173	2.200	0.000	9.467	0.513

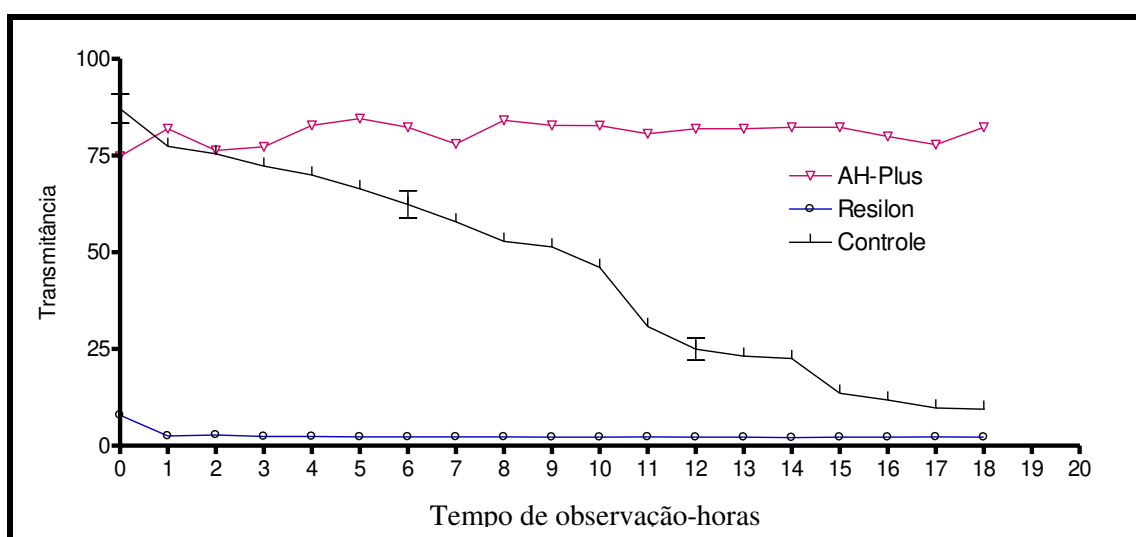


Figura 20: *Actinomyces naeslundii* - 24h

Tabela 29: *Actinomyces naeslundii* - 48h

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	88.000	0.200	6.700	0.265	87.100	3.764
1	88.500	0.346	3.500	0.361	77.367	1.305
2	87.633	0.379	2.700	0.200	75.433	1.662
3	84.400	0.500	2.900	0.200	72.233	1.818
4	84.400	0.500	2.833	0.404	69.967	0.929
5	84.467	0.404	2.600	0.100	66.400	2.052
6	83.700	0.173	2.600	0.100	62.367	3.516
7	82.667	0.416	2.467	0.153	57.867	0.404
8	81.600	0.520	2.600	0.100	52.800	1.735
9	80.500	0.529	2.600	0.100	51.367	0.651
10	78.400	0.529	2.500	0.000	46.100	1.970
11	79.467	0.451	2.600	0.000	30.800	1.652
12	78.400	0.500	2.900	0.200	24.933	2.873
13	76.700	1.058	2.400	0.100	23.133	0.757
14	76.100	0.265	2.467	0.153	22.500	0.721
15	77.900	0.500	2.400	0.100	13.567	1.701
16	74.267	0.709	2.400	0.100	11.800	0.557
17	74.600	0.265	2.200	0.100	9.733	0.666
18	70.400	0.500	2.400	0.100	9.467	0.513

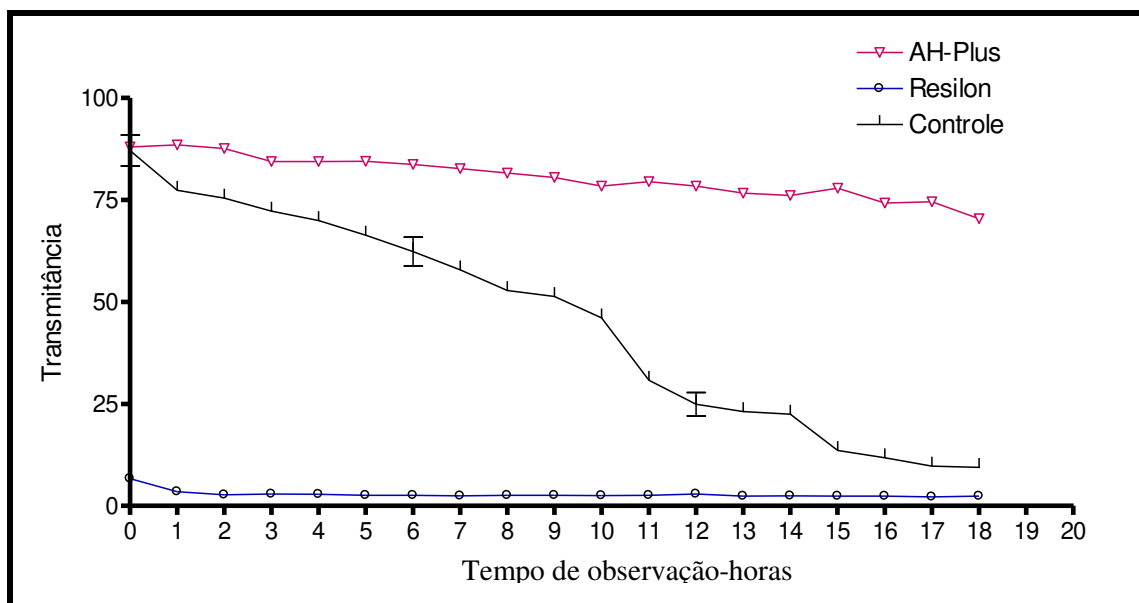


Figura 21 : *Actinomyces naeslundii* - 48h

Tabela 30: *Actinomyces naeslundii* - 7dias

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	76.200	0.200	10.900	10.900	87.100	3.764
1	72.100	0.346	3.100	3.100	77.367	1.305
2	70.600	0.608	2.500	2.500	75.433	1.662
3	71.400	0.100	2.500	2.500	72.233	1.818
4	70.000	0.529	2.400	2.400	69.967	0.929
5	48.500	11.958	2.300	2.300	66.400	2.052
6	64.700	0.854	2.500	2.500	62.367	3.516
7	61.300	0.529	2.300	2.300	57.867	0.404
8	60.200	0.265	2.400	2.400	52.800	1.735
9	51.500	0.557	2.300	2.300	51.367	0.651
10	42.600	0.458	2.300	2.300	46.100	1.970
11	29.800	0.458	2.300	2.300	30.800	1.652
12	16.400	0.458	2.200	2.200	24.933	2.873
13	12.300	0.520	2.200	2.200	23.133	0.757
14	12.133	0.451	2.200	2.200	22.500	0.721
15	11.000	0.265	2.300	2.300	13.567	1.701
16	11.300	0.200	2.300	2.300	11.800	0.557
17	10.700	0.200	2.200	2.200	9.733	0.666
18	11.400	0.100	2.200	2.200	9.467	0.513

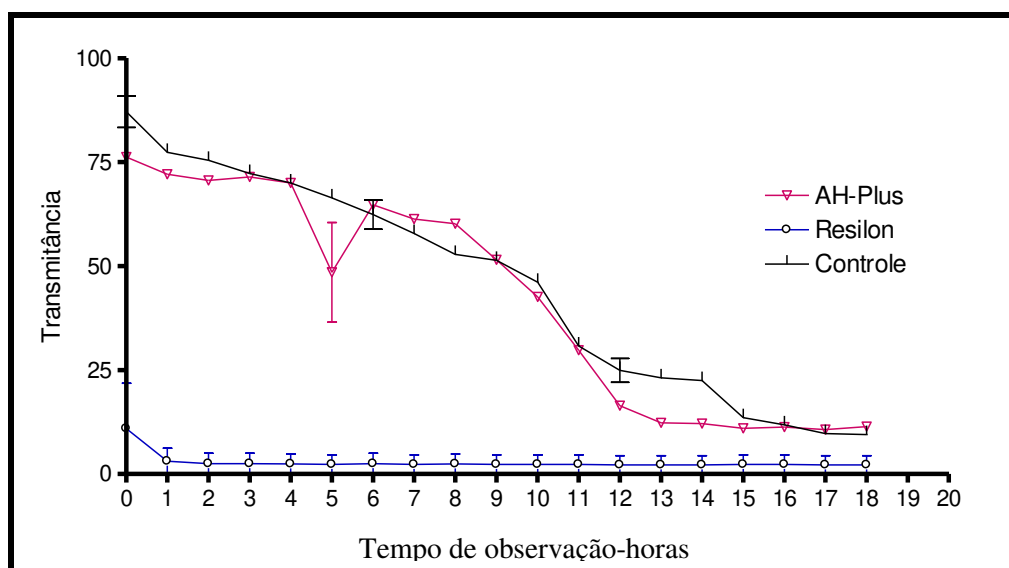


Figura 22 : *Actinomyces naeslundii* - 7dias

Tabela 31 : *Actinomyces naeslundii* - 14dias

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	Dp	Média	dp
0	81.500	0.529	11.900	0.755	87.100	3.764
1	76.000	0.173	3.000	0.200	77.367	1.305
2	80.300	0.529	2.467	0.153	75.433	1.662
3	80.900	0.700	2.467	0.153	72.233	1.818
4	81.800	0.693	2.400	0.100	69.967	0.929
5	85.100	0.346	2.300	0.100	66.400	2.052
6	83.500	0.400	2.300	0.100	62.367	3.516
7	77.500	3.811	2.400	0.000	57.867	0.404
8	84.200	0.300	2.300	0.000	52.800	1.735
9	81.400	0.500	2.300	0.000	51.367	0.651
10	77.300	0.520	2.300	0.000	46.100	1.970
11	82.400	0.608	2.200	0.100	30.800	1.652
12	81.000	0.656	2.200	0.100	24.933	2.873
13	82.300	0.529	2.300	0.000	23.133	0.757
14	78.500	0.400	2.200	0.100	22.500	0.721
15	78.667	0.153	2.200	0.100	13.567	1.701
16	76.000	0.173	2.200	0.100	11.800	0.557
17	80.600	0.300	2.200	0.100	9.733	0.666
18	72.200	0.872	2.200	0.100	9.467	0.513

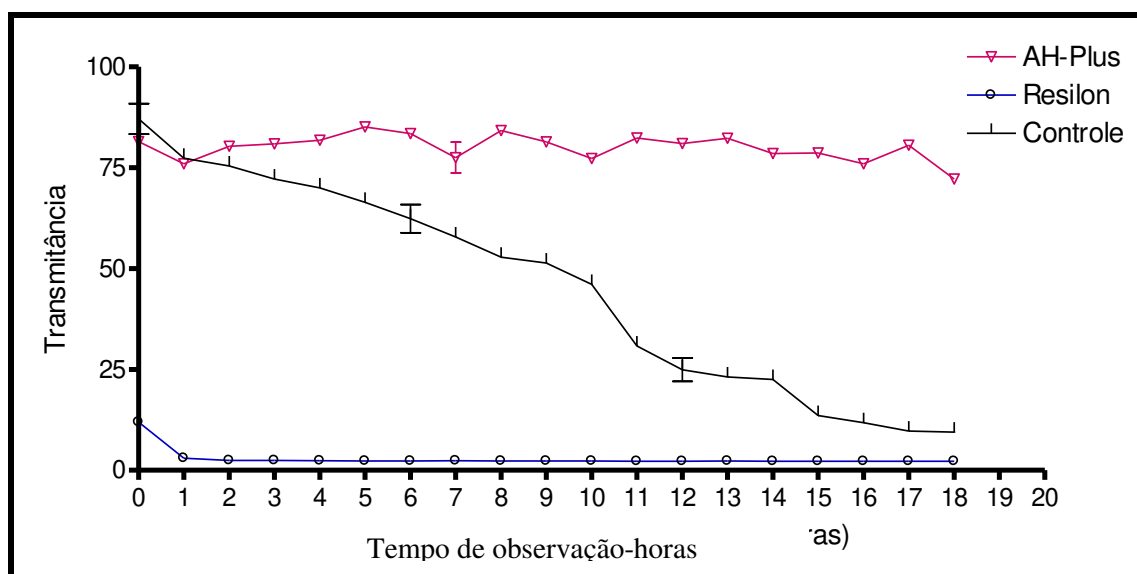


Figura 23: *Actinomyces naeslundii* - 14dias

Tabela 32: *Candida albicans* – Imediato

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Primer		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	68.500	0.400	2.400	0.100	16.333	3.755	91.900	0.000
1	65.567	0.153	2.300	0.000	17.400	2.170	89.867	1.762
2	60.900	0.100	2.400	0.200	13.767	3.412	91.900	3.260
3	62.200	0.300	2.300	0.200	11.633	3.630	90.267	1.762
4	56.900	0.300	2.300	0.100	11.733	4.623	87.000	2.117
5	55.400	0.100	2.300	0.100	11.233	4.769	88.833	1.115
6	54.900	0.300	2.300	0.100	11.100	5.381	83.967	0.451
7	52.433	0.153	2.300	0.100	10.567	5.652	83.000	1.054
8	49.100	0.100	2.300	0.100	9.733	3.950	79.633	2.108
9	48.500	0.400	2.300	0.100	9.667	4.464	72.167	3.252
10	47.967	0.058	2.300	0.100	9.233	4.508	62.033	8.568
11	46.300	0.100	2.300	0.100	9.000	4.015	49.400	3.913
12	46.100	0.200	2.300	0.100	9.467	4.629	43.433	1.060
13	43.400	0.100	2.300	0.100	8.467	4.200	35.500	0.529
14	46.300	0.400	2.200	0.100	8.633	4.272	35.800	2.722
15	43.867	0.451	2.200	0.100	8.167	3.630	35.567	3.179
16	44.000	0.265	2.300	0.100	8.300	3.500	35.067	2.836
17	38.400	0.265	2.300	0.100	7.933	3.099	35.333	3.083
18	41.800	0.608	2.300	0.100	7.767	2.759	33.833	2.650

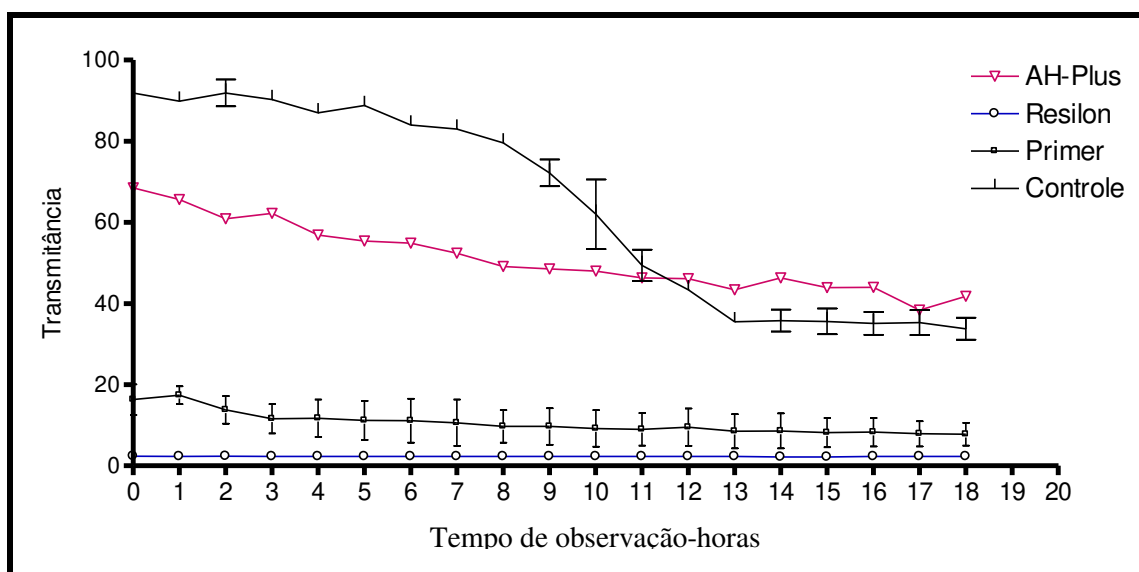


Figura 24: *Candida albicans* – Imediato

Tabela33: *Candida albicans* – 24h.

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	81.900	0.173	14.833	3.786	91.900	0.000
1	81.200	0.265	2.667	0.208	89.867	1.762
2	84.800	0.265	2.500	0.173	91.900	3.260
3	83.100	0.200	2.467	0.115	90.267	1.762
4	80.900	0.173	2.400	0.100	87.000	2.117
5	79.300	0.100	2.367	0.058	88.833	1.115
6	78.000	0.265	2.367	0.058	83.967	0.451
7	73.500	0.300	2.367	0.058	83.000	1.054
8	65.300	0.200	2.367	0.115	79.633	2.108
9	44.983	28.782	2.567	0.379	72.167	3.252
10	53.700	0.173	2.333	0.058	62.033	8.568
11	46.700	0.265	2.467	0.289	49.400	3.913
12	39.900	0.200	2.267	0.058	43.433	1.060
13	33.100	0.100	2.267	0.058	35.500	0.529
14	35.600	0.265	2.300	0.173	35.800	2.722
15	34.200	0.400	2.333	0.058	35.567	3.179
16	31.600	0.361	2.333	0.058	35.067	2.836
17	33.300	0.458	2.333	0.058	35.333	3.083
18	30.300	0.200	2.400	0.000	33.833	2.650

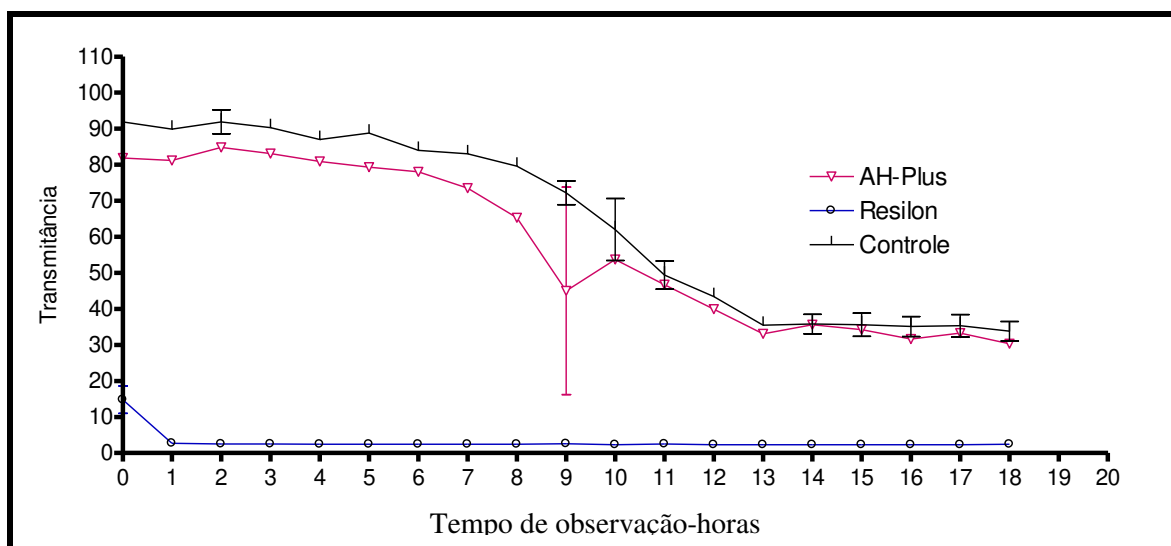


Figura 25: *Candida albicans* – 24h.

Tabela 34: *Candida albicans* – 48h.

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	83.900	0.200	12.100	6.709	91.900	0.000
1	80.900	0.173	5.233	0.850	89.867	1.762
2	83.200	0.300	5.000	0.656	91.900	3.260
3	82.400	0.436	4.600	0.794	90.267	1.762
4	81.300	0.265	4.200	1.015	87.000	2.117
5	77.900	0.866	3.933	0.611	88.833	1.115
6	76.000	0.265	3.933	0.929	83.967	0.451
7	67.000	0.529	3.533	0.451	83.000	1.054
8	65.967	0.321	3.867	1.069	79.633	2.108
9	55.433	0.503	3.800	0.361	72.167	3.252
10	47.300	0.265	3.333	0.208	62.033	8.568
11	41.800	0.200	3.533	0.321	49.400	3.913
12	37.900	0.872	3.233	0.493	43.433	1.060
13	31.400	0.400	3.233	0.153	35.500	0.529
14	32.300	0.529	3.333	0.551	35.800	2.722
15	23.500	0.721	3.667	0.586	35.567	3.179
16	20.533	0.351	3.467	0.651	35.067	2.836
17	19.400	1.000	3.200	0.200	35.333	3.083
18	21.700	0.346	3.233	0.208	33.833	2.650

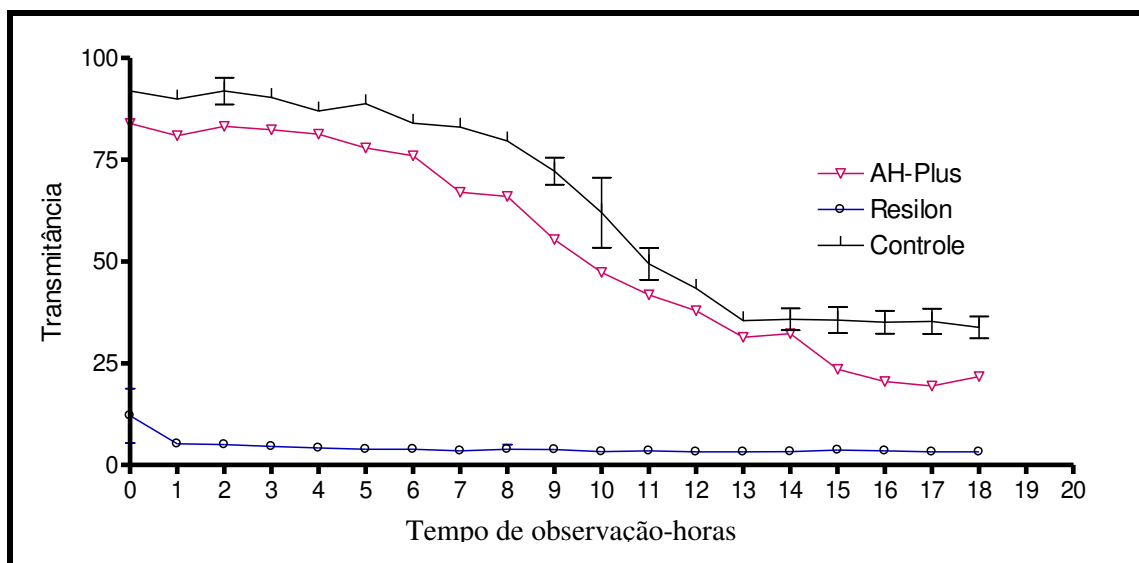


Figura 26: *Candida albicans* – 48h.

Tabela 35: *Candida albicans* – 7dias.

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	90.800	0.400	16.567	8.558	91.900	0.000
1	90.500	0.265	2.267	0.058	89.867	1.762
2	89.000	0.265	2.300	0.100	91.900	3.260
3	88.400	1.229	2.300	0.000	90.267	1.762
4	85.100	0.200	2.233	0.058	87.000	2.117
5	82.900	0.100	2.233	0.058	88.833	1.115
6	80.200	0.608	2.233	0.058	83.967	0.451
7	75.600	0.436	2.300	0.000	83.000	1.054
8	66.367	0.551	2.233	0.058	79.633	2.108
9	49.400	0.624	2.233	0.058	72.167	3.252
10	41.500	0.458	2.433	0.321	62.033	8.568
11	34.900	0.400	2.267	0.115	49.400	3.913
12	28.800	0.361	2.300	0.173	43.433	1.060
13	21.300	0.265	2.167	0.058	35.500	0.529
14	20.400	0.265	2.400	0.436	35.800	2.722
15	19.200	0.200	2.200	0.000	35.567	3.179
16	19.800	0.400	2.167	0.058	35.067	2.836
17	18.700	0.100	2.200	0.000	35.333	3.083
18	19.500	0.100	2.200	0.000	33.833	2.650

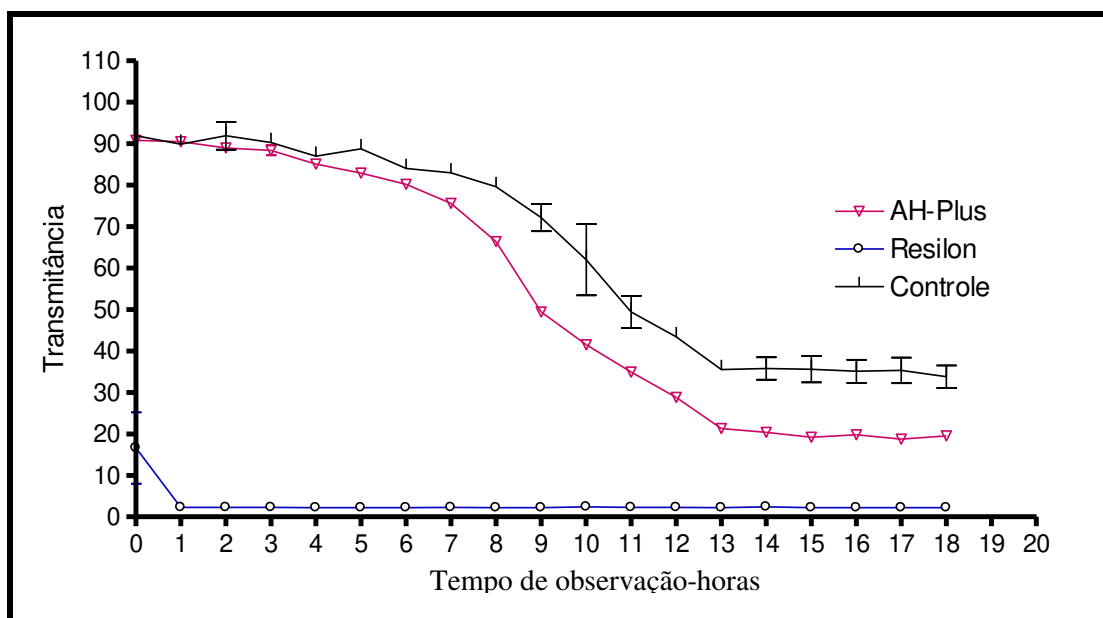


Figura 27: *Candida albicans* – 7dias

Tabela 36: *Candida albicans* – 14dias

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	81.467	0.115	7.233	0.586	91.900	0.000
1	86.967	2.894	2.167	0.058	89.867	1.762
2	81.400	0.500	2.300	0.100	91.900	3.260
3	83.800	0.100	2.300	0.100	90.267	1.762
4	81.867	0.451	2.300	0.100	87.000	2.117
5	78.567	0.306	2.300	0.100	88.833	1.115
6	71.300	0.400	2.300	0.100	83.967	0.451
7	67.400	0.400	2.300	0.100	83.000	1.054
8	58.567	0.306	2.300	0.100	79.633	2.108
9	42.633	0.058	2.300	0.100	72.167	3.252
10	38.767	0.058	2.333	0.153	62.033	8.568
11	35.900	0.200	2.300	0.100	49.400	3.913
12	35.900	0.200	2.333	0.153	43.433	1.060
13	36.200	0.300	2.167	0.058	35.500	0.529
14	36.200	0.100	2.167	0.058	35.800	2.722
15	35.700	0.200	2.100	0.100	35.567	3.179
16	37.200	0.300	2.100	0.100	35.067	2.836
17	34.767	0.115	2.100	0.100	35.333	3.083
18	34.600	0.173	2.100	0.100	33.833	2.650

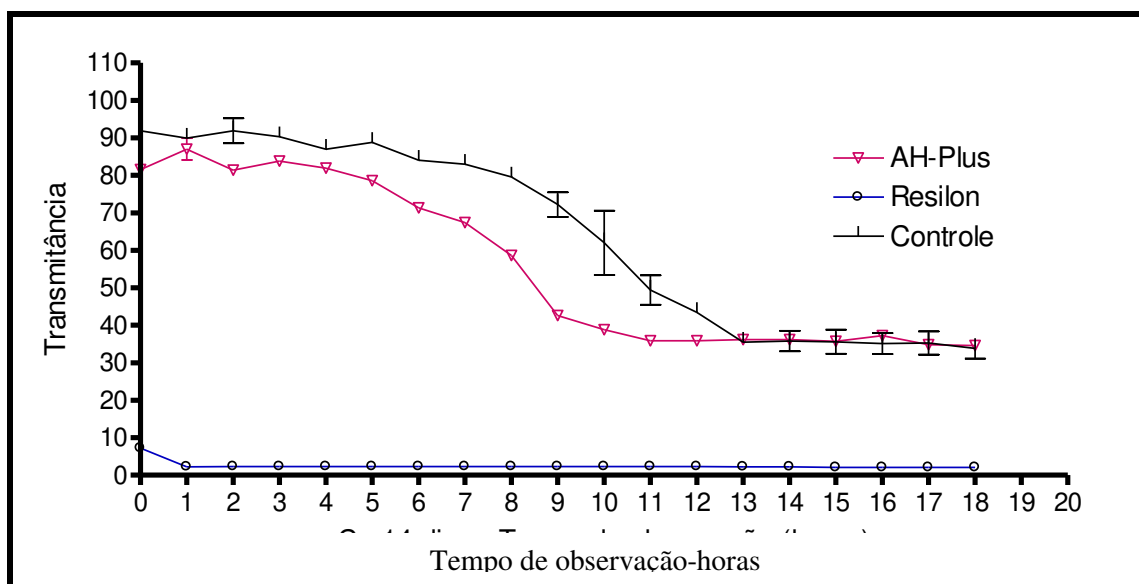


Figura 28: *Candida albicans* – 14dias

Tabela 37: *Enterococcus faecalis* - Imediato

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Primer		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	60.800	0.781	4.100	0.200	18.567	2.021	91.900	0.000
1	59.300	0.200	3.600	0.100	18.100	2.343	82.533	8.756
2	48.000	0.100	3.600	0.100	16.133	1.888	56.800	16.048
3	43.100	0.755	2.600	0.200	13.433	2.178	30.400	8.807
4	34.900	0.361	2.600	0.200	12.167	2.065	27.733	5.661
5	26.700	0.436	2.600	0.200	11.200	2.651	22.767	3.842
6	19.400	0.529	2.500	0.100	11.133	2.954	21.533	0.971
7	14.233	0.058	2.600	0.200	10.233	2.974	21.200	0.700
8	11.800	0.436	2.700	0.100	9.867	3.109	20.533	1.012
9	10.900	0.500	2.600	0.100	9.467	3.024	19.833	0.493
10	10.800	0.100	2.600	0.100	9.233	3.421	19.833	0.603
11	10.300	0.265	2.567	0.115	10.733	2.721	19.900	1.114
12	10.100	0.346	2.600	0.100	8.533	3.204	19.767	0.961
13	9.700	0.458	2.500	0.100	7.867	2.802	18.967	0.473
14	10.000	0.200	2.500	0.100	7.633	2.650	18.967	1.069
15	9.467	0.551	2.500	0.100	7.433	2.641	19.167	2.023
16	9.100	0.265	2.567	0.153	7.433	2.967	20.500	3.012
17	9.400	0.100	2.500	0.100	7.300	2.646	20.033	2.779
18	9.100	0.200	2.500	0.100	7.400	2.972	19.267	2.196

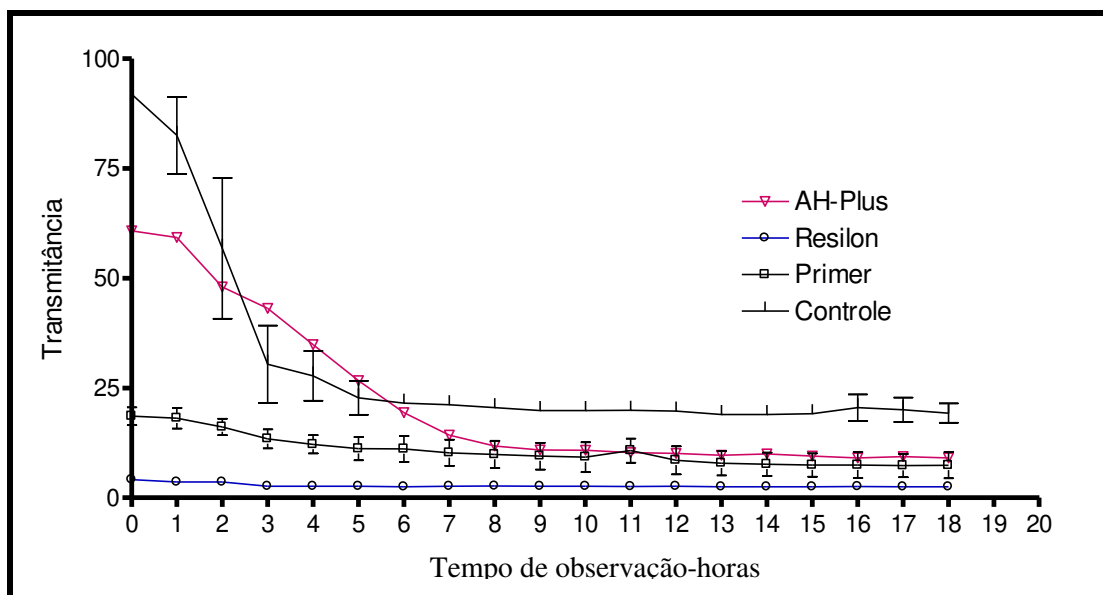


Figura 29: *Enterococcus faecalis* - Imediato

Tabela 38: *Enterococcus faecalis* – 24h

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	81.633	0.666	6.167	3.153	91.900	0.000
1	72.600	0.608	3.267	1.159	82.533	8.756
2	55.300	0.529	2.467	0.058	56.800	16.048
3	29.300	0.520	2.433	0.058	30.400	8.807
4	17.800	0.265	2.400	0.000	27.733	5.661
5	15.100	0.436	2.333	0.058	22.767	3.842
6	14.600	0.265	2.367	0.058	21.533	0.971
7	15.300	0.200	2.433	0.058	21.200	0.700
8	14.700	0.346	2.367	0.058	20.533	1.012
9	14.900	0.100	2.300	0.000	19.833	0.493
10	14.900	0.100	2.300	0.000	19.833	0.603
11	14.400	0.458	2.300	0.000	19.900	1.114
12	14.900	0.700	2.300	0.000	19.767	0.961
13	14.200	0.265	2.300	0.000	18.967	0.473
14	14.200	0.265	2.200	0.000	18.967	1.069
15	13.900	0.100	2.300	0.000	19.167	2.023
16	13.500	0.200	2.300	0.000	20.500	3.012
17	13.200	0.265	2.333	0.058	20.033	2.779
18	13.700	0.173	2.300	0.000	19.267	2.196

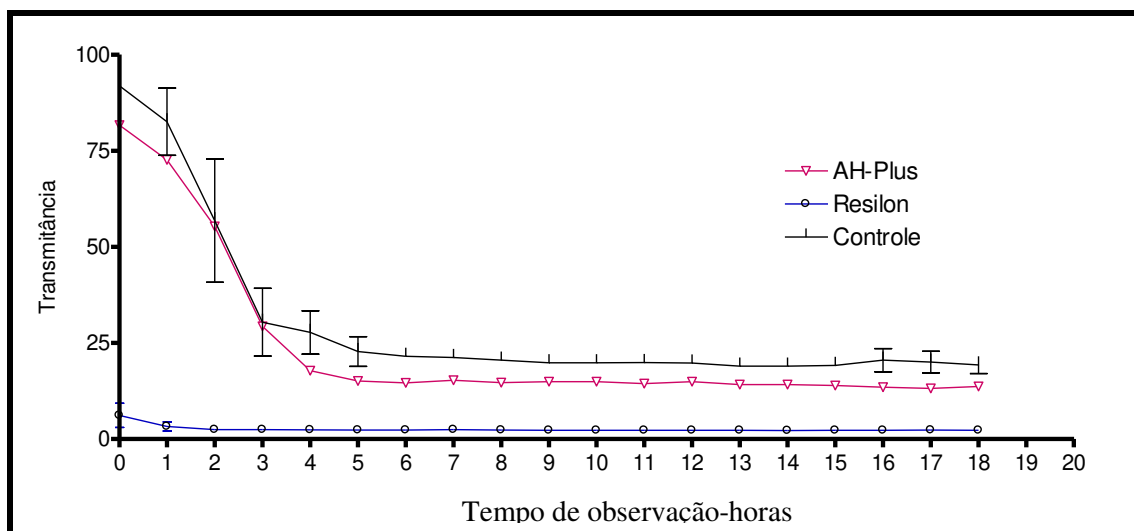


Figura 21: *Enterococcus faecalis* – 24h

Tabela 39: *Enterococcus faecalis* – 48h .

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	58.700	0.361	16.700	8.671	91.900	0.000
1	42.800	0.346	6.000	2.261	82.533	8.756
2	19.600	0.265	4.233	0.777	56.800	16.048
3	17.700	0.265	3.533	1.210	30.400	8.807
4	17.600	0.265	3.800	0.794	27.733	5.661
5	17.700	0.265	4.133	0.493	22.767	3.842
6	16.700	0.557	3.900	0.529	21.533	0.971
7	16.867	0.252	3.933	0.493	21.200	0.700
8	16.867	0.252	3.867	0.862	20.533	1.012
9	16.600	0.361	3.833	0.764	19.833	0.493
10	16.000	0.100	3.533	0.493	19.833	0.603
11	16.500	0.361	4.367	0.961	19.900	1.114
12	16.000	0.100	3.433	0.551	19.767	0.961
13	16.100	0.100	3.467	0.493	18.967	0.473
14	16.400	0.200	3.167	0.451	18.967	1.069
15	16.700	0.200	3.267	0.503	19.167	2.023
16	17.100	0.265	3.267	0.289	20.500	3.012
17	17.200	0.200	3.400	0.265	20.033	2.779
18	17.000	0.173	3.567	0.493	19.267	2.196

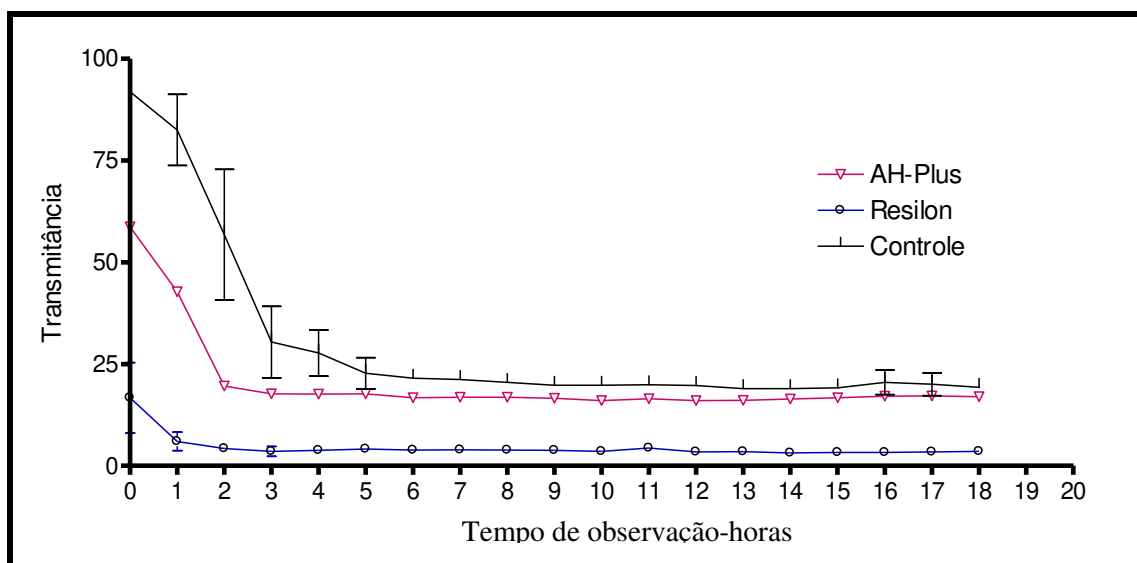


Figura 22 *Enterococcus faecalis* – 48h.

Tabela 40: *Enterococcus faecalis* – 7dias

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	92.200	0.300	5.667	2.491	91.900	0.000
1	89.800	0.173	2.267	0.058	82.533	8.756
2	82.500	0.265	2.300	0.000	56.800	16.048
3	73.600	0.361	2.233	0.058	30.400	8.807
4	55.300	0.436	2.233	0.058	27.733	5.661
5	33.500	0.557	2.167	0.058	22.767	3.842
6	18.100	0.361	2.200	0.100	21.533	0.971
7	16.000	0.964	2.167	0.058	21.200	0.700
8	15.500	0.346	2.167	0.058	20.533	1.012
9	15.000	0.173	2.200	0.100	19.833	0.493
10	15.100	0.346	2.167	0.058	19.833	0.603
11	15.000	0.265	2.133	0.058	19.900	1.114
12	15.500	0.361	2.067	0.058	19.767	0.961
13	14.800	0.458	2.067	0.058	18.967	0.473
14	14.200	0.529	2.067	0.058	18.967	1.069
15	14.200	0.529	2.167	0.058	19.167	2.023
16	14.100	1.253	2.100	0.000	20.500	3.012
17	11.700	0.529	2.133	0.058	20.033	2.779
18	11.100	0.529	2.133	0.058	19.267	2.196

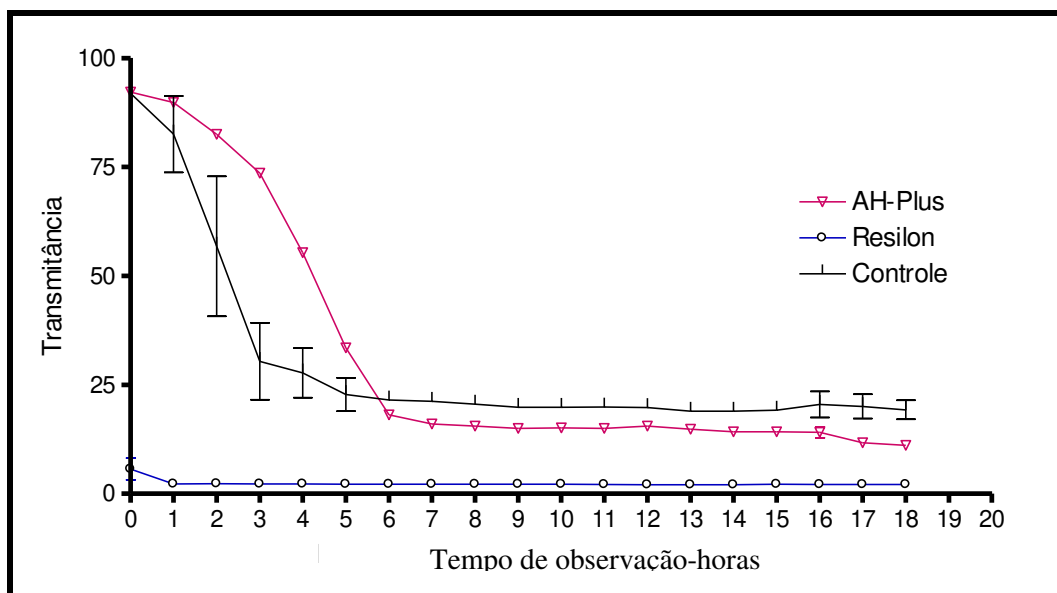


Figura 23: *Enterococcus faecalis* – 7dias

Tabela 41: *Enterococcus faecalis* – 14 dias

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	93.100	1.082	7.600	0.917	91.900	0.000
1	92.900	0.872	2.233	0.058	82.533	8.756
2	91.800	1.652	2.300	0.000	56.800	16.048
3	92.500	1.277	2.300	0.100	30.400	8.807
4	90.500	0.400	2.267	0.058	27.733	5.661
5	91.000	0.173	2.200	0.000	22.767	3.842
6	90.100	0.608	2.133	0.058	21.533	0.971
7	90.400	1.442	2.200	0.000	21.200	0.700
8	89.700	0.624	2.167	0.058	20.533	1.012
9	89.533	0.611	2.133	0.058	19.833	0.493
10	88.567	0.404	2.133	0.058	19.833	0.603
11	87.500	0.520	2.133	0.058	19.900	1.114
12	84.600	0.520	2.133	0.058	19.767	0.961
13	84.700	0.361	2.133	0.058	18.967	0.473
14	84.900	0.346	2.133	0.058	18.967	1.069
15	74.933	0.208	2.100	0.000	19.167	2.023
16	79.200	0.361	2.067	0.058	20.500	3.012
17	75.400	0.500	2.033	0.058	20.033	2.779
18	72.800	0.819	2.067	0.058	19.267	2.196

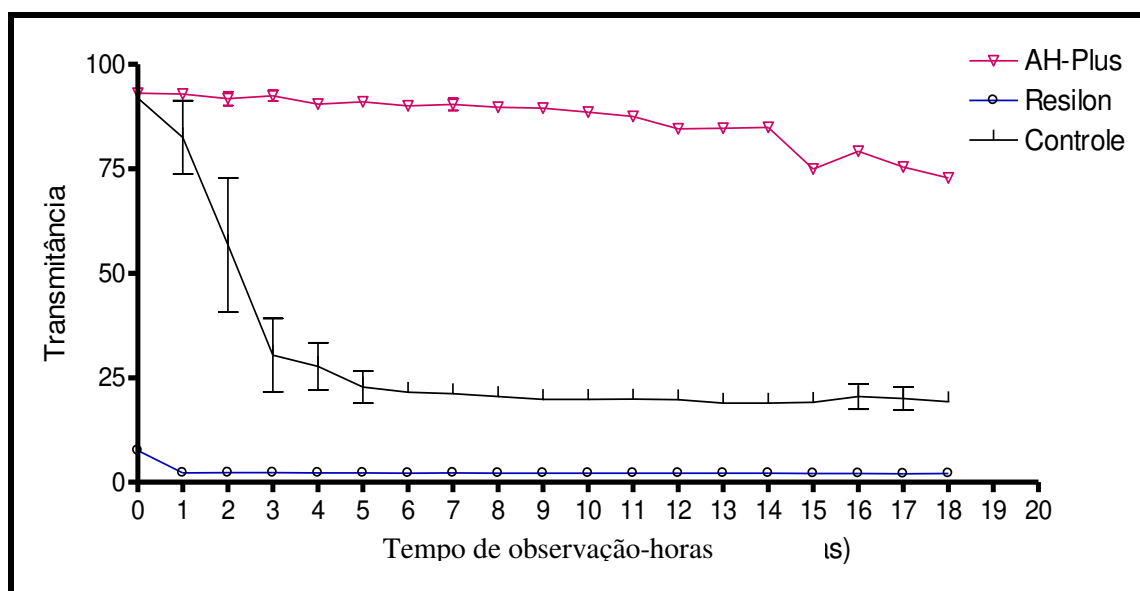


Figura 24: *Enterococcus faecalis* – 14 dias.

Tabela 42: *Staphylococcus aureus* - Imediato

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Primer		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	44.000	0.173	2.500	0.100	54.667	0.651	91.733	0.289
1	37.633	0.404	2.500	0.200	39.900	0.400	89.800	1.929
2	42.300	0.520	2.300	0.100	39.933	0.351	72.433	0.833
3	42.200	0.520	2.700	0.200	33.200	0.265	51.400	6.010
4	37.600	0.520	2.200	0.173	28.200	0.458	22.467	0.907
5	35.100	0.173	2.100	0.173	24.500	0.608	20.200	1.510
6	30.700	0.624	2.100	0.173	23.200	0.100	18.233	0.513
7	37.300	1.039	2.200	0.100	19.700	0.200	16.867	0.751
8	30.800	0.954	2.500	0.200	19.500	0.200	16.500	0.436
9	30.633	1.012	2.000	0.000	18.100	0.265	16.000	0.361
10	30.400	0.781	2.100	0.100	16.700	0.200	15.800	0.100
11	28.600	0.608	2.100	0.100	15.900	0.300	15.633	0.208
12	24.200	0.265	2.000	0.000	15.500	0.100	15.667	0.115
13	23.000	0.100	2.000	0.000	14.700	0.400	15.467	0.153
14	21.700	0.436	2.000	0.000	13.800	0.721	15.100	0.100
15	21.700	0.436	2.000	0.000	13.700	0.656	15.033	0.153
16	20.400	0.500	2.000	0.000	13.200	0.361	14.933	0.058
17	18.200	0.100	2.000	0.000	12.500	0.200	14.733	0.058
18	18.800	0.781	1.900	0.000	11.800	0.361	14.733	0.208

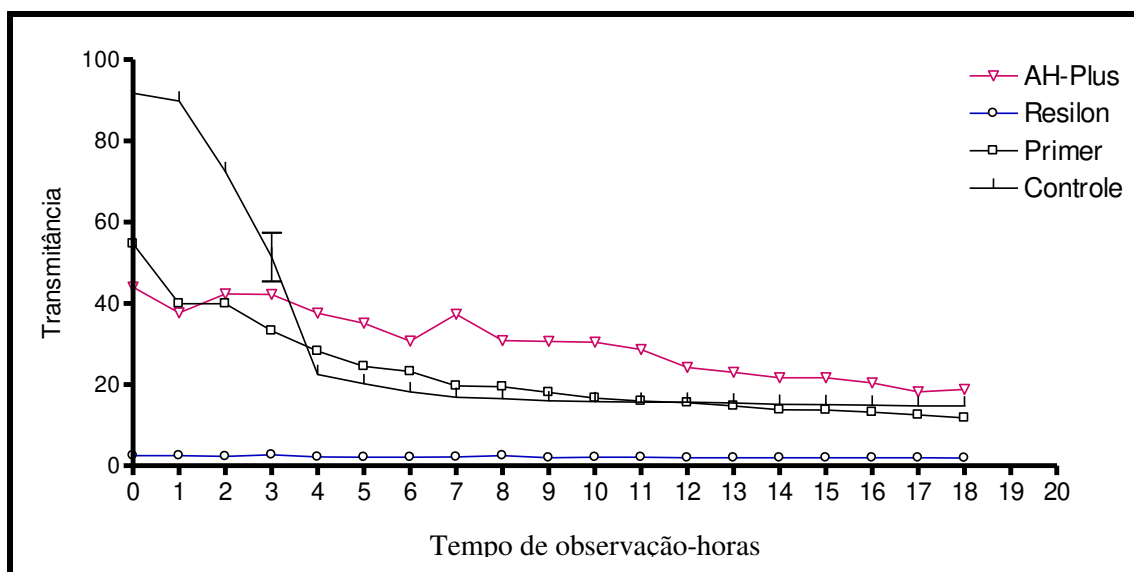


Figura 25: *Staphylococcus aureus* - Imediato

Tabela 43: *Staphylococcus aureus* – 24h

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	86.800	0.436	74.233	1.528	91.733	0.289
1	88.233	1.405	72.500	1.127	89.800	1.929
2	83.200	1.127	67.133	0.404	72.433	0.833
3	84.900	0.700	62.600	0.458	51.400	6.010
4	83.600	0.265	53.800	0.361	22.467	0.907
5	85.500	0.500	45.000	0.436	20.200	1.510
6	84.300	0.693	37.133	1.124	18.233	0.513
7	85.900	0.794	24.933	0.451	16.867	0.751
8	87.233	0.351	21.800	0.458	16.500	0.436
9	85.500	0.458	20.500	0.600	16.000	0.361
10	86.600	1.500	21.500	0.346	15.800	0.100
11	86.200	0.520	19.300	0.656	15.633	0.208
12	85.800	0.656	18.200	0.200	15.667	0.115
13	85.967	0.404	18.900	0.557	15.467	0.153
14	85.700	0.436	17.800	0.173	15.100	0.100
15	84.800	0.100	17.000	0.300	15.033	0.153
16	86.000	0.173	18.500	0.529	14.933	0.058
17	85.200	0.985	17.000	0.361	14.733	0.058
18	84.900	1.000	18.000	0.100	14.733	0.208

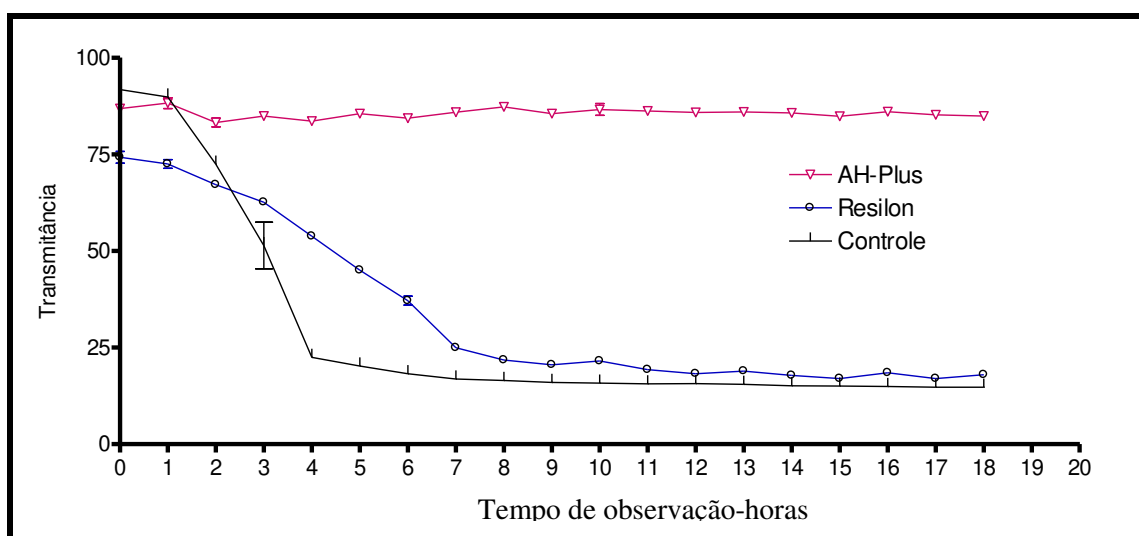


Figura 26: *Staphylococcus aureus* – 24h

Tabela 44: *Staphylococcus aureus* – 48h

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	86.900	0.794	66.100	0.954	91.733	0.289
1	85.200	0.600	49.033	0.569	89.800	1.929
2	67.067	6.043	36.800	0.436	72.433	0.833
3	42.600	0.600	24.300	0.608	51.400	6.010
4	20.900	0.400	12.400	0.693	22.467	0.907
5	17.700	0.608	9.800	0.265	20.200	1.510
6	16.900	0.866	9.500	0.458	18.233	0.513
7	16.000	1.015	9.500	0.458	16.867	0.751
8	14.800	1.277	9.300	0.520	16.500	0.436
9	14.700	1.375	8.100	0.200	16.000	0.361
10	14.200	0.700	7.700	0.173	15.800	0.100
11	14.900	0.500	7.667	0.681	15.633	0.208
12	14.833	0.503	7.667	0.404	15.667	0.115
13	14.933	1.002	7.300	0.529	15.467	0.153
14	14.167	0.153	6.900	0.400	15.100	0.100
15	14.167	0.153	7.700	0.436	15.033	0.153
16	14.800	0.361	7.200	0.265	14.933	0.058
17	14.700	0.529	7.000	0.173	14.733	0.058
18	14.400	0.500	7.200	0.300	14.733	0.208

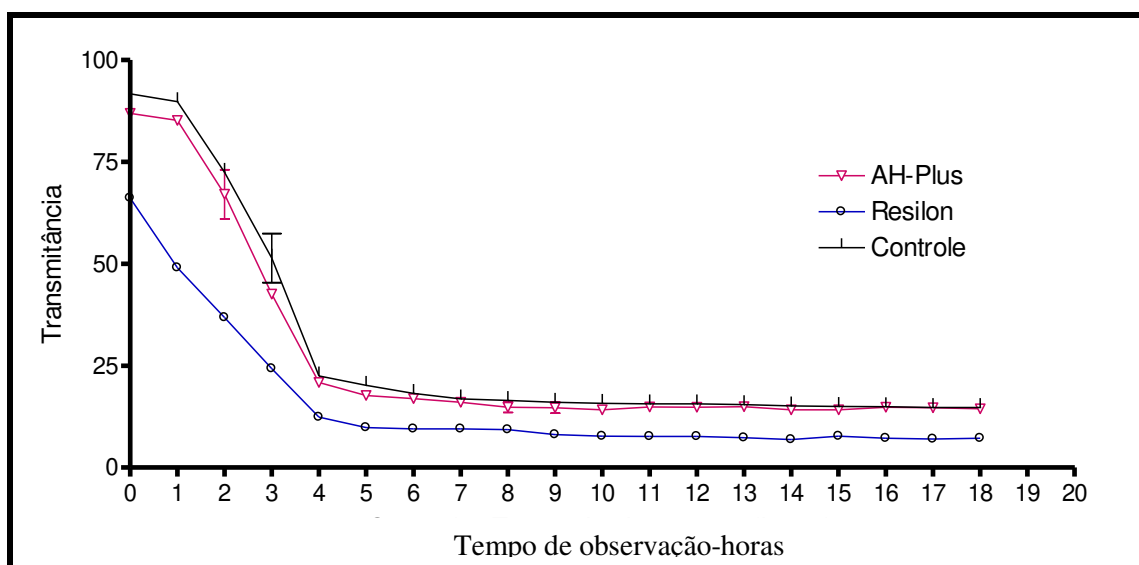


Figura 27: *Staphylococcus aureus* – 48h

Tabela 45: *Staphylococcus aureus* – 7dias

Tempo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	87.100	1.058	49.200	1.082	91.733	0.289
1	83.900	0.500	42.567	0.577	89.800	1.929
2	64.400	0.781	23.800	0.458	72.433	0.833
3	38.600	0.656	22.400	0.436	51.400	6.010
4	20.400	0.624	13.000	0.173	22.467	0.907
5	17.733	2.060	9.400	0.500	20.200	1.510
6	15.900	0.346	8.700	0.265	18.233	0.513
7	15.900	0.346	9.200	0.300	16.867	0.751
8	14.833	0.651	7.900	0.200	16.500	0.436
9	17.100	0.721	6.800	0.100	16.000	0.361
10	14.500	0.700	7.000	0.100	15.800	0.100
11	14.200	0.458	6.900	0.200	15.633	0.208
12	14.900	0.458	6.900	0.200	15.667	0.115
13	14.300	0.700	7.000	0.100	15.467	0.153
14	14.300	0.700	7.000	0.100	15.100	0.100
15	14.900	0.656	7.700	0.173	15.033	0.153
16	14.300	0.608	6.800	0.265	14.933	0.058
17	14.267	0.814	6.100	0.200	14.733	0.058
18	14.267	0.814	6.367	0.208	14.733	0.208

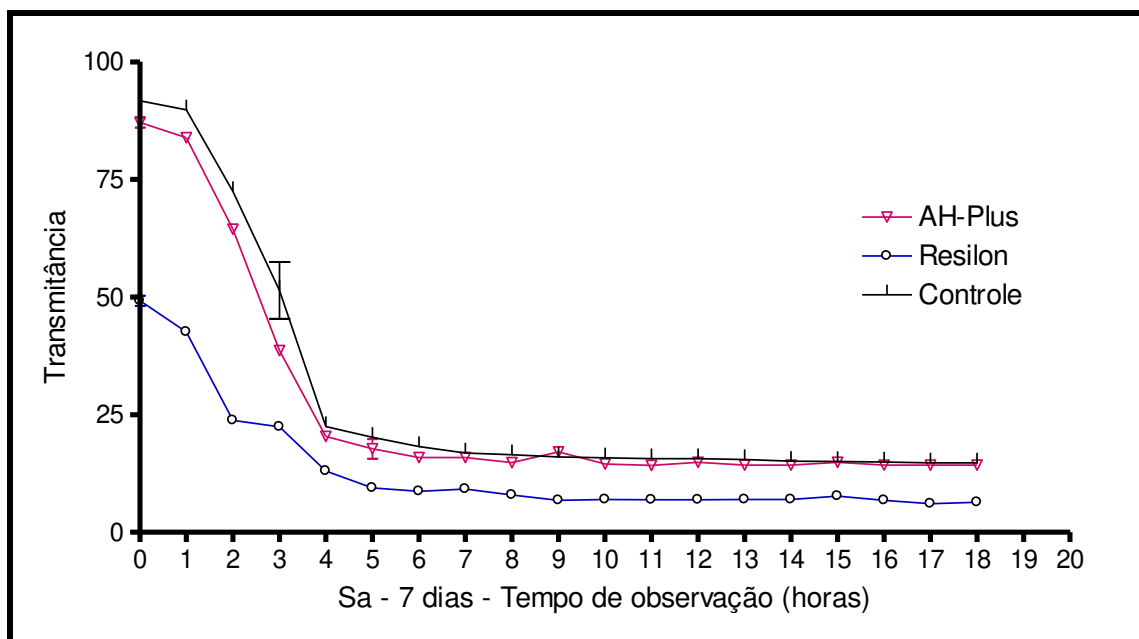


Gráfico 28: *Staphylococcus aureus* – 7dias

Tabela 46: *Staphylococcus aureus* – 14dias

Termpo (h)	AH Plus		Resilon		Controle	
	Média	dp	Média	dp	Média	dp
0	71.100	1.114	69.700	0.557	91.733	0.289
1	86.900	2.330	53.600	0.624	89.800	1.929
2	71.000	1.539	37.400	1.114	72.433	0.833
3	51.300	0.608	27.800	0.854	51.400	6.010
4	24.700	0.346	18.600	0.529	22.467	0.907
5	19.100	0.361	11.800	0.200	20.200	1.510
6	17.700	0.755	9.867	0.153	18.233	0.513
7	17.000	0.265	8.900	0.600	16.867	0.751
8	17.100	0.173	10.000	0.265	16.500	0.436
9	16.000	0.265	9.000	0.200	16.000	0.361
10	15.900	0.500	7.900	0.600	15.800	0.100
11	15.500	0.529	7.600	0.557	15.633	0.208
12	15.400	0.500	6.300	0.608	15.667	0.115
13	15.367	0.451	7.233	0.764	15.467	0.153
14	15.367	0.451	8.000	0.265	15.100	0.100
15	15.367	0.451	7.900	0.300	15.033	0.153
16	15.900	0.500	8.500	0.458	14.933	0.058
17	15.133	0.586	7.200	0.529	14.733	0.058
18	14.600	0.200	6.400	0.500	14.733	0.208

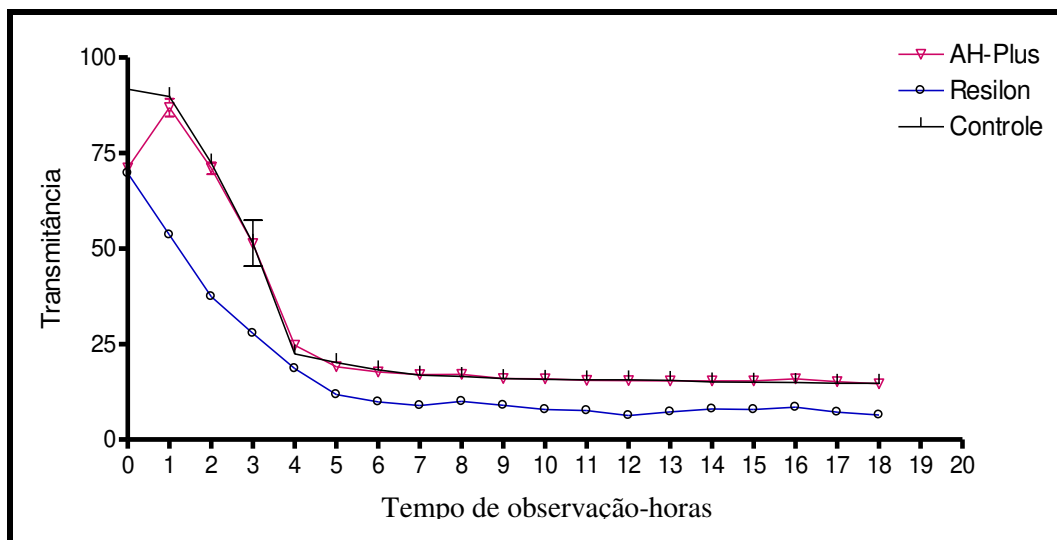


Figura 29: *Staphylococcus aureus* – 14dias

Dissolução dos cimento

Tabela 47: Dissolução – Imediato

Tempo (h)	AH Plus Dissolução		Epiphany Dissolução	
	Média	dp	Média	dp
0	31.900	1.015	2.133	0.252
1	30.100	2.606	0.600	0.300
2	28.900	3.051	0.600	0.300
3	20.967	1.644	0.467	0.153
4	17.200	0.600	0.467	0.208
5	16.200	0.954	0.433	0.153
6	15.233	0.907	0.233	0.208
7	14.233	1.069	0.233	0.208
8	12.200	0.721	0.233	0.208
9	12.567	0.252	0.300	0.100
10	12.167	0.351	0.400	0.100
11	11.800	0.265	0.467	0.058
12	10.900	0.458	0.500	0.000
13	10.200	0.436	0.433	0.058
14	8.633	0.666	0.400	0.000
15	8.067	0.551	0.400	0.000
16	7.033	0.404	0.267	0.153
17	6.467	0.451	0.267	0.153
18	6.300	0.458	0.233	0.115

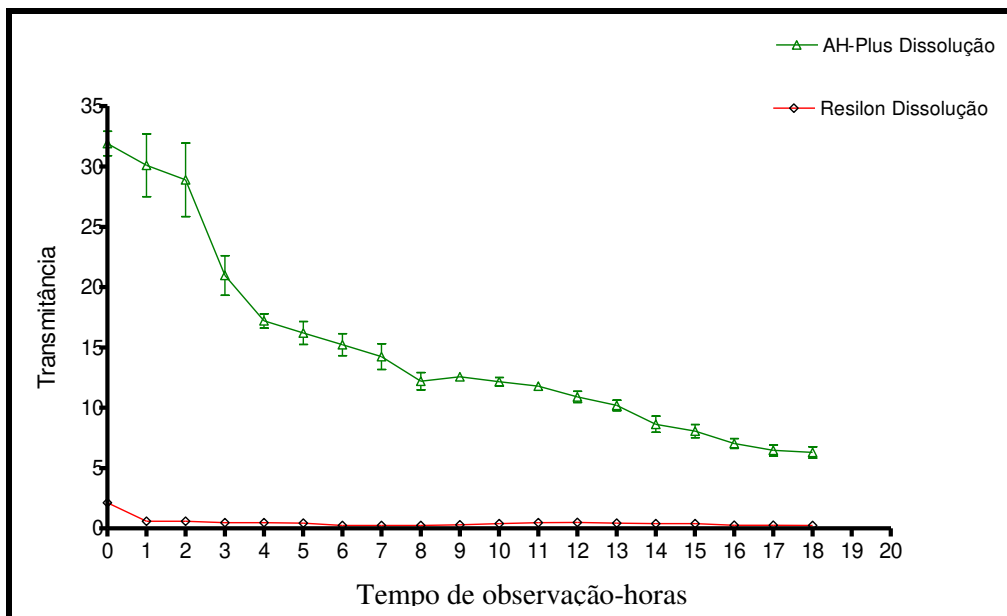


Figura 30: Dissolução – Imediato

Tabela 48: Dissolução – 24h

Tempo (h)	AH Plus Dissolução		Epiphany Dissolução	
	Média	dp	Média	dp
0	87.533	0.473	4.267	1.222
1	86.933	0.404	0.300	0.265
2	82.167	0.252	0.400	0.265
3	75.767	0.351	0.467	0.153
4	75.467	0.208	0.467	0.058
5	75.000	0.100	0.467	0.058
6	72.633	0.666	0.400	0.100
7	69.133	0.252	0.433	0.058
8	65.600	0.624	0.467	0.058
9	66.967	1.159	0.733	0.153
10	63.900	0.889	1.100	0.608
11	63.200	0.608	0.867	0.058
12	62.133	0.404	0.867	0.058
13	60.600	0.173	0.867	0.058
14	55.700	0.265	0.967	0.208
15	48.100	0.608	0.867	0.153
16	50.033	2.139	0.800	0.100
17	48.100	0.557	0.800	0.100
18	46.267	0.321	0.800	0.100

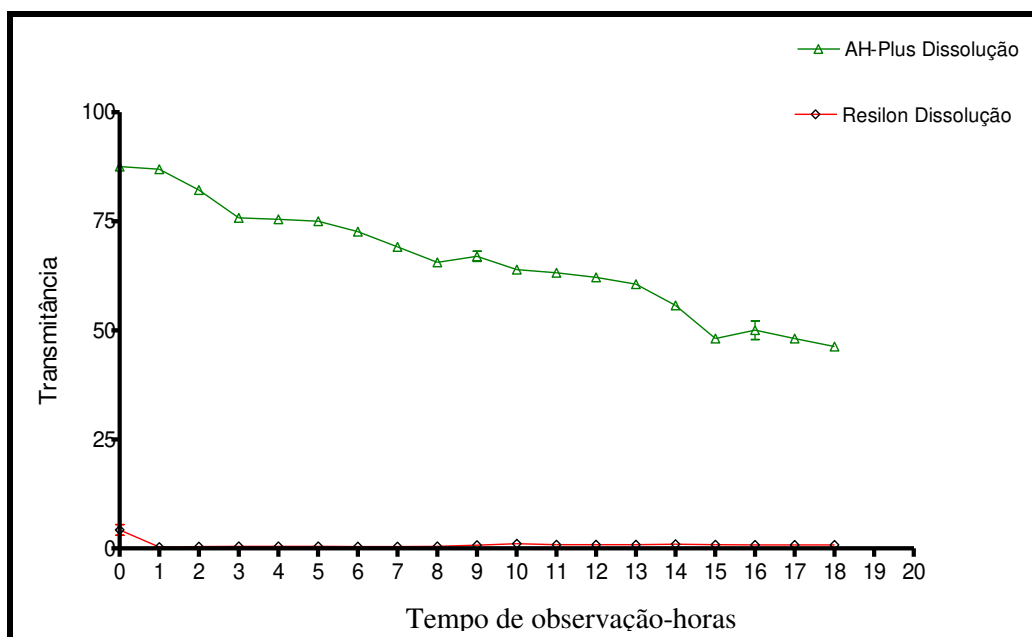


Figura 31: Dissolução – 24h

Tabela49 : Dissolução – 48h

Tempo (h)	AH Plus Dissolução		Epiphany Dissolução	
	Média	dp	Média	dp
0	98.267	0.558	2.500	1.539
1	97.533	0.603	0.500	0.173
2	94.833	0.058	0.567	0.058
3	94.500	0.361	0.533	0.058
4	94.167	0.586	0.567	0.058
5	93.533	0.666	0.567	0.058
6	92.200	0.200	0.500	0.173
7	92.300	0.400	0.533	0.252
8	92.400	0.458	0.833	0.379
9	92.933	0.569	1.500	0.100
10	93.367	0.208	1.400	0.000
11	93.567	0.115	1.300	0.100
12	93.900	0.000	1.367	0.115
13	94.000	0.100	1.367	0.153
14	93.933	0.153	1.367	0.153
15	89.000	0.100	1.367	0.153
16	88.900	0.100	1.367	0.153
17	87.567	0.289	1.367	0.153
18	88.067	0.681	1.367	0.153

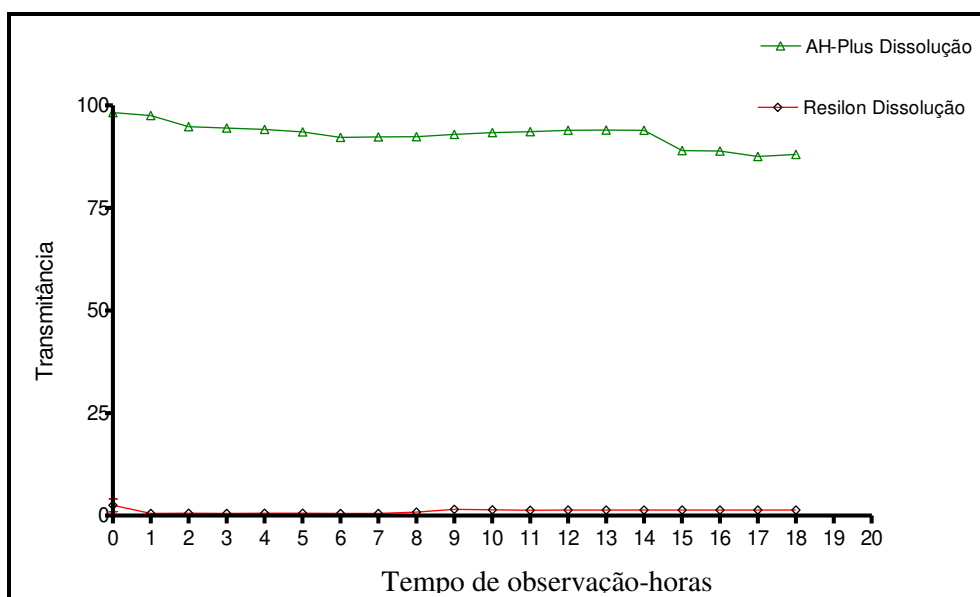


Figura 32: Dissolução – 48h

Tabela 50: Dissolução – 7 dias

Tempo (h)	AH Plus Dissolução		Epiphany Dissolução	
	Média	dp	Média	dp
0	98.433	0.569	0.567	0.058
1	98.400	0.100	0.500	0.000
2	98.100	0.200	0.533	0.058
3	97.833	0.115	0.567	0.058
4	95.500	0.200	0.567	0.058
5	95.400	0.200	0.533	0.115
6	95.567	0.306	0.533	0.115
7	95.400	0.265	0.533	0.115
8	95.700	0.265	0.533	0.115
9	97.133	0.058	0.567	0.115
10	96.967	0.115	0.700	0.100
11	97.067	0.153	0.567	0.058
12	97.367	0.208	0.633	0.058
13	97.900	0.100	0.600	0.100
14	97.333	0.153	0.600	0.100
15	97.800	0.100	0.600	0.100
16	97.867	0.058	0.600	0.100
17	96.033	0.058	0.600	0.100
18	96.067	0.153	0.600	0.100

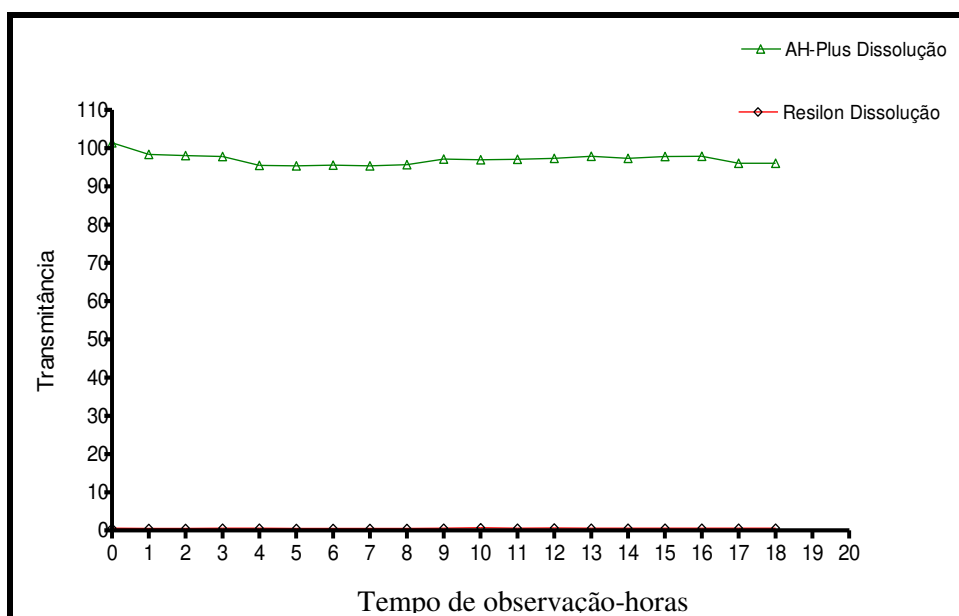


Figura 33: Dissolução – 7 dias

Tabela 51: Dissolução – 14 dias

Tempo (h)	AH Plus Dissolução		Epiphany Dissolução	
	Média	dp	Média	dp
0	98.467	1.909	1.333	0.493
1	98.400	1.411	1.133	0.153
2	98.200	0.866	1.267	0.115
3	98.233	0.058	1.367	0.058
4	97.233	0.153	1.367	0.058
5	97.233	0.058	1.400	0.100
6	97.500	0.173	1.467	0.058
7	97.667	0.404	1.467	0.058
8	96.600	0.173	1.433	0.058
9	97.500	0.100	1.300	0.265
10	98.533	0.115	1.267	0.153
11	97.367	0.058	1.333	0.058
12	98.467	0.058	1.333	0.058
13	98.367	0.058	1.300	0.100
14	98.500	0.100	1.333	0.058
15	98.267	0.058	1.333	0.058
16	97.800	0.100	1.300	0.000
17	97.633	0.153	1.300	0.000
18	98.433	0.153	1.200	0.173

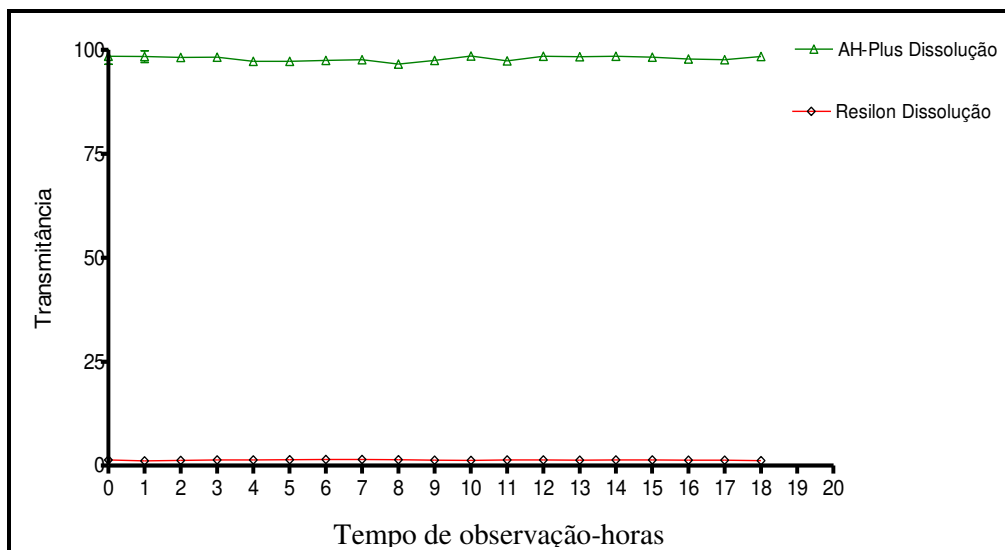


Figura 34: Dissolução – 14 dias