

Artigo Original de Pesquisa
Original Research Article

Avaliação *in vitro* da ação antimicrobiana de alguns cimentos endodônticos

In vitro evaluation of the antimicrobial activity of some endodontic sealers

Denise Piotto LEONARDI*
Júlio César BATTISTI**
Dyego Teixeira KLIMIONT**
Paulo Henrique TOMAZINHO***
Flares BARATTO FILHO****
Gisele Aihara HARAGUSHIKU*****
Flávia Sens Fagundes TOMAZINHO*****

Endereço para correspondência:
Address for correspondence:

Denise Piotto Leonardi
Rua Professor Pedro Viriato Parigot de Souza, 5.300 – Campo Comprido
CEP 81280-330 – Curitiba – PR
E-mail: denisepl@up.edu.br

* Professora Adjunta de Endodontia da Universidade Positivo. Doutora em Endodontia.
** Acadêmicos do 5.º ano do curso de Odontologia da Universidade Positivo.
*** Professor Adjunto de Microbiologia da Universidade Positivo. Mestre em Microbiologia.
**** Coordenador do Mestrado em Odontologia Clínica da Universidade Positivo.
***** Professoras Adjuntas de Endodontia da Universidade Positivo. Mestres em Endodontia.

Recebido em 1.º/12/08. Aceito em 27/2/09.
Received on December 1, 2008. Accepted on February 27, 2009.

Palavras-chave:

ação antimicrobiana;
cimentos endodônticos;
obturação do canal
radicular.

Resumo

Introdução: Ao realizar o tratamento endodôntico, o cirurgião-dentista deve utilizar meios para eliminar ou reduzir o número de bactérias situadas no interior do canal radicular em casos de necrose pulpar. **Objetivo:** Avaliar a ação antimicrobiana dos cimentos endodônticos Endofill, Sealer 26, AHPlus e Acroseal. **Material e métodos:** A avaliação foi feita pelo método de estudo de difusão em ágar, em placas previamente inoculadas com os microrganismos *E. coli*, *E. faecalis*, *B. cereus* e *S. aureus*. Após 48 horas de incubação em estufa a 37°C, realizou-se leitura do diâmetro do halo de inibição do crescimento microbiano. **Resultados:** O cimento Acroseal mostrou atividade antimicrobiana ausente contra *E. coli* e *E. faecalis* e

moderada contra *B. cereus* e *S. aureus*; o AHPlus e o Endofill evidenciaram alto poder antimicrobiano principalmente contra *E. coli*; o Sealer 26 apresentou moderada ação antimicrobiana contra todos os microrganismos empregados. **Conclusão:** A maioria dos cimentos endodônticos avaliados demonstrou atividade antimicrobiana contra os microrganismos usados. Os cimentos AHPlus e Endofill tiveram maior poder antimicrobiano.

Keywords:

antimicrobial activity;
endodontic sealers;
root canal filling.

Abstract

Introduction: When performing endodontic treatment, the dental surgeon must find ways to eliminate or reduce the microorganisms situated in the root canal in cases of pulpal necrosis. **Objective:** To analyze the antimicrobial action of Endofill, Sealer 26, AHPlus and Acroseal endodontic sealers. **Material and methods:** Evaluation was made by Agar diffusion method in plates previously inoculated with the following microorganisms: *E. coli*, *E. faecalis*, *B. cereus* and *S. aureus*. The zones of inhibition were measured after 48 hours of incubation at 37°C. **Results:** Acroseal sealer showed no antimicrobial activity against *E. coli* and *E. faecalis* and it showed moderate activity against *B. cereus* and *S. aureus*; AHPlus and Endofill showed high activity mainly against *E. coli*; Sealer 26 showed moderate activity against all of the microorganisms used. **Conclusion:** The majority of endodontic sealers have showed antimicrobial activity against the microorganisms used. AHPlus and Endofill sealers were the ones that showed greater antimicrobial activity.

Introdução

Os cirurgiões-dentistas, ao realizarem um tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar, precisam lançar mão de meios adequados para eliminar ou reduzir o número de bactérias situadas no interior dos canais radiculares [26]. A cadeia asséptica deve ser mantida durante todas as fases do tratamento para que o ambiente no interior do canal radicular seja adequado e permita o reparo dos tecidos periapicais [20, 28].

Segundo Soares e Goldberg (2001) [23], a dificuldade de tornar os canais radiculares um meio livre de microrganismos está relacionada com a complexidade e a variabilidade de sua morfologia. O sistema de canais radiculares é composto por um canal principal, o qual pode apresentar várias ramificações. Estas variam de acordo com a sua posição ou características de cada elemento dentário. Dessa forma, a obturação endodôntica precisa preencher tridimensionalmente o canal modelado para impedir a multiplicação e a sobrevivência de bactérias que tenham permanecido no sistema de canais [10].

Atualmente o mercado odontológico comercializa uma grande variedade de cimentos endodônticos que apresentam em sua fórmula diferentes componentes, os quais levam a variações de suas propriedades físicas, químicas e biológicas [17].

De acordo com Grossman (1958) [8], os cimentos endodônticos devem preencher requisitos físico-químicos e biológicos para serem considerados ideais. Entre os fatores biológicos, a ação antimicrobiana é imprescindível, pois visa eliminar remanescentes microbianos do preparo biomecânico e da medicação intracanal.

Os cimentos endodônticos mais utilizados nas clínicas odontológicas são aqueles à base de óxido de zinco e eugenol, não somente em sua fórmula original, mas também em formulações diversas. Entre eles se destaca o Endofill (Dentsply/Maillefer Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ), pois apresenta impermeabilidade, resistência à solubilização, estabilidade dimensional, tempo de presa adequado e baixo custo [17].

O cimento AHPlus (Dentsply DeTrey GmbH, Germany) é composto por polímeros de resina epóxica. Apresenta bom desempenho como selante, boa aderência aos canais radiculares e baixa solubilidade e desintegração [14]. O cimento Sealer 26 (Dentsply/Maillefer Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ), que também possui resina em sua composição, tem demonstrado boa capacidade seladora como material obturador de canais radiculares [22]. Trata-se de um material à base de resina epóxica e tem hidróxido de cálcio em sua formulação [21]. Assim, oferece boa ação antimicrobiana ante diversos microrganismos, principalmente no período de 24 horas [6]. Também

tem demonstrado boa capacidade seladora como material obturador e como material retro-obturador nas cirurgias pararendodônticas [21]. O cimento Acroseal (Septodont Brasil Ltda., Barueri, São Paulo, Brasil) é também composto à base de resina epóxica e hidróxido de cálcio.

Diante do exposto, a proposta do presente estudo foi avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana dos cimentos endodônticos Endofill, Sealer 26, AHPlus e Acroseal contra microrganismos comumente encontrados em canais radiculares com necrose pulpar.

Material e métodos

Os cimentos endodônticos analisados foram: Endofill, Sealer 26, AHPlus e Acroseal. Para a avaliação da ação antimicrobiana dos cimentos, utilizaram-se amostras dos microrganismos *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Bacillus cereus* (CCCD – B001) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), previamente estocados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Positivo. Foram obtidas culturas recentes desses microrganismos por meio de inoculação em 5 mL de meio de cultura *brain heart infusion* (BHI) com incubação a 37°C, por 72 horas em condições de aerobiose. Após o período de incubação, fez-se padronização da cultura na turbidez 0,5 da escala de Mc Farland (aprox. $1,5 \times 10^8$ UFC/mL) em um novo tubo contendo 5 mL de caldo BHI estéril, para utilização como teste inóculo.

As placas de Petri com ágar Mueller-Hinton foram inoculadas com 0,1 mL de cultura de cada microrganismo com auxílio da alça Drigaski. Depois da absorção, escavaram-se poços com auxílio de um *punch* de 6 mm de diâmetro (figura 1), posteriormente preenchidos com os cimentos endodônticos (figura 2). O teste foi realizado em triplicata.



Figura 1 - Confecção dos poços com auxílio de um *punch* de 6 mm de diâmetro



Figura 2 - Preenchimento dos poços com cimento endodôntico com auxílio de uma seringa Centrix

Alíquotas dos cimentos previamente espatulados, de acordo com a orientação do fabricante, foram acondicionadas nos poços de ágar (figura 3). As placas ficaram em repouso em temperatura ambiente por 2 horas para difusão dos cimentos no meio de cultura e em seguida foram incubadas em estufa bacteriológica (FANEM®, São Paulo, Brasil) a 37°C por 48 horas.

Após o período de incubação, a leitura foi realizada verificando-se ausência ou presença de halo de inibição (figuras 4 e 5). Os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos por três observadores com auxílio de uma régua milimetrada transparente. Os valores mensurados foram tabulados e submetidos a estatística descritiva por média e desvio-padrão (tabela I).



Figura 3 - Cimento previamente espatulado acondicionado nos poços de ágar



Figura 4 - Maior halo de inibição do crescimento (seta) produzido pelo cimento AHPlus sobre *Escherichia coli*



Figura 5 - Halos de inibição de diferentes tamanhos produzidos pelos cimentos estudados ante *Staphylococcus aureus*

Tabela I - Médias dos halos de inibição do crescimento em milímetros e desvio-padrão dos diferentes cimentos ante os microrganismos testados

| Cimentos | Microrganismos | | | |
|-----------|----------------|--------------------|------------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>B. cereus</i> | <i>S. aureus</i> |
| Acrosel | 0 | 0 | 8 | 11 |
| AHPlus | 24,33±2,52 | 12 | 8,33±0,58 | 12,33±0,58 |
| Sealer 26 | 11,33±0,58 | 8 | 9,67±0,58 | 12±1 |
| Endofill | 20±2 | 9,67±0,58 | 11,33±1,15 | 12±1 |

Medida em milímetros seguida do desvio-padrão

Resultados

Os resultados obtidos sobre a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos encontram-se expressos na tabela I.

Entre os microrganismos empregados, o cimento Acroseal promoveu a formação de halo de inibição apenas para *S. aureus* e *B. cereus*; contra *B. cereus* causou o menor halo formado. O cimento AHPlus mostrou maior halo de inibição para *E. coli*, seguido por *S. aureus*, *E. faecalis* e *B. cereus*. Para o cimento Sealer 26, o maior halo de inibição ocorreu para *S. aureus*, e em sequência vieram *E. coli*, *B. cereus* e *E. faecalis*. O cimento Endofill mostrou halo de inibição maior ante *E. coli*, seguido por *S. aureus*, *B. cereus* e *E. faecalis*. O maior halo formado entre os cimentos testados foi para o AHPlus perante *E. coli*.

Discussão

A fase técnica do tratamento endodôntico é concluída com a obturação do canal radicular. No entanto o material obturador nem sempre se adere adequadamente às paredes dentinárias. Os possíveis

espaços existentes no interior do canal radicular já obturado podem favorecer a proliferação de microrganismos que escaparam à ação do preparo biomecânico e da medicação intracanal. Dessa forma, a ação antimicrobiana dos cimentos endodônticos é de extrema importância [9].

A difusão em ágar tornou-se um dos métodos mais utilizados para analisar a atividade antimicrobiana de substâncias empregadas na terapia endodôntica [2, 3, 5, 9, 15, 25, 27]. Esse método permite avaliação do poder antimicrobiano de diversos materiais; por isso, é indicado para verificar o poder antimicrobiano de cimentos endodônticos. Por outro lado, apesar da importância da composição química de um cimento e da consolidação científica do método de estudo utilizado, é preciso ainda comprovar se o tamanho do halo de inibição depende somente do poder de toxicidade dos cimentos ou se também está relacionado à capacidade de difusão do material analisado.

Por ser um meio sólido e permitir a sobrevivência e o crescimento dos microrganismos, foi empregado o meio de cultura ágar Mueller-Hinton. Para padronizar o número de colônias de microrganismos inoculados,

fez-se uso da escala de McFarland. Esperou-se 48 horas para a análise dos resultados por ser o tempo necessário para que ocorra a proliferação dos microrganismos. A capacidade antimicrobiana de cada cimento é verificada medindo-se um halo sem crescimento bacteriano ao redor do cimento, ou seja, halo de inibição de crescimento.

E. faecalis é uma bactéria gram-positiva facultativa frequentemente encontrada em infecções endodônticas persistentes [24]. Mostra-se resistente a determinados agentes antimicrobianos e, dessa forma, pode permanecer no interior do canal radicular mesmo após o preparo biomecânico [13]. *E. coli*, uma bactéria gram-negativa facultativa verdadeira, vive na presença ou na ausência de oxigênio. Não é uma bactéria comum da cavidade bucal, mas pode estar presente principalmente em indivíduos mais velhos ou clinicamente comprometidos [12]. *S. aureus* é um microrganismo gram-positivo, comum em pele e incomum em cavidade bucal, mas, juntamente com *E. coli*, tem sido amplamente utilizado em testes de antibiograma. Ambos são considerados microrganismos controle para esse teste pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária [1]. *B. cereus*, também uma bactéria gram-positiva, tem como característica do gênero a produção de cápsulas de carboidrato bem desenvolvidas em sua porção externa da parede celular. Por isso, foi incluído neste estudo, representando assim a diversidade ecológica e fisiológica dos microrganismos encontrados na cavidade bucal [18].

Por meio da análise dos resultados desta pesquisa, foi possível observar que o AHPlus apresentou uma das maiores atividades antimicrobianas, principalmente contra *E. coli*, mostrando ação inferior apenas em relação ao cimento Endofill e Sealer 26 contra *B. cereus*. Tais dados diferem daqueles obtidos no trabalho de Kopper *et al.* (2007) [10], no qual o AHPlus mostrou a ação antimicrobiana mais tênue em comparação com Endofill e Sealer 26. Os autores usaram como corpos-de-prova discos de papel-filtro impregnados com os cimentos. No presente estudo, o cimento foi colocado diretamente em contato com os poços, o que pode levar a uma maior quantidade de material em contato com ágar e, conseqüentemente, maior poder antimicrobiano. O cimento que mostrou os menores halos de inibição foi o Acroseal. O baixo poder antimicrobiano de cimentos à base de hidróxido de cálcio deve-se à baixa solubilidade do íon hidroxila [7].

Notou-se que o Endofill apresentou maiores halos de inibição do que o Sealer 26 quando em contato com *E. coli*, *E. faecalis* e *B. cereus*. Esses resultados estão de acordo com os de Kopper *et al.* (2007) [10], no entanto os autores acharam resultados superiores para o Endofill contra

E. faecalis, *C. albicans* e *P. aeruginosa*. Siqueira *et al.* (2000) [21] encontraram contra *E. faecalis* ausência de ação antimicrobiana para o Sealer 26. Nesta pesquisa, não se observou ausência de ação contra *E. faecalis* para o Sealer 26, porém foram os menores halos obtidos.

O Endofill mostrou-se com médio poder antimicrobiano contra *S. aureus*, evidenciando halo próximo ao formado pelo AHPlus contra o mesmo microrganismo. Tais resultados diferem dos alcançados por Pupo *et al.* (1983) [16] e Leonardo *et al.* (2000) [11]. Esses autores constataram maior ação antimicrobiana contra *S. aureus* para o cimento à base de óxido de zinco e eugenol em relação ao AHPlus. Signoretti *et al.* (2003) [19] verificaram maior efetividade do Endofill ante a cultura de *S. aureus* em comparação com o Sealer 26, que também é um cimento à base de resina epóxica.

O poder antimicrobiano do Endofill ocorre graças à ação do eugenol presente em sua composição, enquanto o poder antibacteriano de cimentos à base de hidróxido de cálcio está associado à sua capacidade de manter o pH local elevado. No entanto, após a presa dos cimentos à base de hidróxido de cálcio, o pH tende a declinar, causando a perda da efetividade contra os microrganismos [4]. O baixo poder de inibição demonstrado pelo AHPlus em outros estudos deve-se ao fato de esse cimento não possuir componentes com alto poder antimicrobiano, como, por exemplo, formaldeído ou eugenol [9]. Todavia, no presente trabalho, esse cimento mostrou adequada ação antimicrobiana verificada pela medição dos halos de inibição.

Ao considerar a literatura científica, é possível constatar que há um grande número de pesquisas realizadas para avaliar a atividade antimicrobiana de cimentos obturadores de canais radiculares. Porém os trabalhos encontrados empregam diversos métodos de estudo, cimentos com diferentes composições e microrganismos variados, o que pode levar a uma dificuldade de compreender a real ação antimicrobiana dos materiais testados.

Deve-se ter cuidado ao transferir para a realidade clínica os resultados obtidos em estudos que avaliam o poder antimicrobiano de determinadas substâncias pelo método de difusão em ágar. Os microrganismos do canal radicular podem colonizar o interior dos túbulos dentinários. Assim, tão importante quanto o poder antimicrobiano dos cimentos é a sua capacidade de difusão para, dessa forma, exercer ou aumentar a sua ação contra os microrganismos. A fim de determinar o alcance antimicrobiano de cimentos endodônticos, não apenas o tamanho do halo de inibição deve ser considerado, mas também o seu poder de difusão e a sua solubilidade.

Conclusão

Diante das condições do presente estudo, conclui-se que a maioria dos cimentos endodônticos avaliados apresentou atividade antimicrobiana contra os microrganismos usados, e os cimentos que mostraram maior poder antimicrobiano foram o AHPlus e o Endofill.

Referências

- 1) Anvisa. Controle interno de qualidade para testes de sensibilidade a antimicrobianos [Documento online]. 2006 [Acesso em 2 nov 2008]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/manual_teste_antimicrobiano.pdf.
- 2) Athanassiadis B, Abbott PV, George N, Walsh LJ. An *in vitro* study of the antimicrobial activity of some endodontic medicaments and their bases using an agar well diffusion assay. *Aust Dent J*. 2009 Jun;54(2):141-6.
- 3) Blanscet ML, Tordik PA, Goodell GG. An agar diffusion comparison of the antimicrobial effect of calcium hydroxide at five different concentrations with three different vehicles. *J Endod*. 2008 Oct;34(10):1246-8.
- 4) Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*. 1985 Jan;18(1):35-40.
- 5) De Rezende GP, da Costa LR, Pimenta FC, Baroni DA. *In vitro* antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: a preliminary study. *Braz Dent J*. 2008;19(4):301-5.
- 6) Duarte MAH, Weckwerth PH, Moraes IG. Análise da ação antimicrobiana de cimentos e pastas empregados na prática endodôntica. *Rev Odontol Univ de São Paulo*. 1997 Oct/Dec;11(4):299-305.
- 7) Fuss Z, Weiss EL, Shalhav UM. Antimicrobial activity of calcium hydroxide containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* *in vitro*. *Int Endod J*. 1997 Nov;30(6):397-402.
- 8) Grossman LI. An improved root canal cement. *J Am Dent Assoc*. 1958 Mar;56(3):381-5.
- 9) Kaplan AE, Picca M, Bonzalez MI, Macchi RL, Molgatini SL. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an *in vitro* evaluation. *Endod Dent Traumatol*. 1999 Feb;15(1):42-5.
- 10) Kopper PM, Rosa RO, Figueiredo JAP, Pereira CC, Tartarotti E, Filippini HF. Avaliação, *in vitro*, da atividade antimicrobiana de três cimentos endodônticos. *Rev Odonto Ciência*. 2007 Apr/Jun;22(56):106-11.
- 11) Leonardo MR, Silva ABL, Tanomaru-Filho M, Cortes KC, Ito IY. *In vitro* evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in Endodontics. *J Endod*. 2000 Jul;26(7):391-4.
- 12) March P, Martin MV. *Microbiologia oral*. 4. ed. São Paulo: Santos; 2005. p. 192.
- 13) Nair PN, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, 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 Dec;16(12):580-8.
- 14) Nunes VH, Silva RG, Alfredo E, Sousa-Neto MD, Silva-Souza YTC. Adhesion of Epiphany and AH plus sealers to human root dentin treated with different solutions. *Braz Dent J*. 2008;19(1):46-50.
- 15) Orstavik D. Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. *Int Endod J*. 1981 May;14(2):125-33.
- 16) Pupo J, Biral RR, Benatti O, Abe A, Valdrighi L. Antimicrobial effects of endodontic filling cements on microorganisms from root canal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1983 Jun;55(6):622-7.
- 17) Sandini V, Queiroz MCS, Philipps M, Heil Junior D. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos à base de óxido de zinco e eugenol. *J Bras Endod*. 2004;5(17):115-20.
- 18) Scannapieco FA. Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1994;5(3-4):203-48.
- 19) Signoretti FGC, Gomes BPFA, Pedroso JA, Teixeira FB, Vianna ME, Jacinto RC et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de cinco cimentos endodônticos. In: 19.^a Reunião Anual da SBPqO. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2003. p. 61.
- 20) Siqueira Jr JF. Medicação intracanal: por que e quando usar? In: Cardoso RJ, Gonçalves EA (Orgs.). *Endodontia e trauma*. v. 2. São Paulo: Artes Médicas; 2002. p. 219-38.

- 21) Siqueira Jr JF, Favieri A, Gahyva S, Moraes SR, Lima K, Lopes HP. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod.* 2000 May;26(5):274-7.
- 22) Siqueira Jr JF, Garcia Filho PF. Avaliação in vitro das propriedades seladoras de três cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. *Rev Bras Odontologia.* 1994;51:37-40.
- 23) Soares IJ, Goldberg F. Endodontia: técnica e fundamentos. Porto Alegre: Artmed; 2001. p. 183-7.
- 24) Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1998 Jan;85(1):86-93.
- 25) Tanomaru JM, Tanomaru Filho M, Hotta J, Watanabe E, Ito IY. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. *Acta Odontol Latinoam.* 2008;21(2):147-51.
- 26) Tomazinho LF, Silva DCC, Fagundes FS, Tomazinho PH. Estudo in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras na eliminação de *Enterococcus faecalis*. *Rev Sul-Bras Odontol.* 2007;4(1):12-6.
- 27) Vianna ME, Gomes BP. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Apr;107(4):585-9.
- 28) Weine FS. Tratamento endodôntico. 5. ed. São Paulo: Santos; 1998. p. 862.

Como citar este artigo:

Leonardi DP, Battisti JC, Klimiont DT, Tomazinho PH, Baratto Filho F, Haragushiku GA et al. Avaliação in vitro da ação antimicrobiana de alguns cimentos endodônticos. *Rev Sul-Bras Odontol.* 2009 Dec;6(4):367-73.
