

Renata Costa Val Rodrigues¹
Renata Gonçalves Soares¹
Thaís Medeiros da Silva¹
Patrícia dos Santos Marotta¹
Kleber Borgo Kill¹
Sivana Alves de Carvalho Duailibe¹
Tárcia Virgínia Falcão¹
Flávio Rodrigues Ferreira Alves²

Antimicrobial activity of different endodontic sealers

Atividade antimicrobiana de diferentes cimentos endodônticos

ABSTRACT | Objective: The aim of the present study was to evaluate, *in vitro*, the antimicrobial activity of four endodontic sealers: *Fill Canal* (Technew, Brazil), *Sealer 26* (Dentsply, Brazil), *Real Seal* (SybronEndo, EUA) and an experimental sealer (SybronEndo, EUA). Methodology: Petri plates with *Mitis-Salivarius* agar were inoculated with human saliva of two different subjects (saliva 1 and 2) or with a *Enterococcus faecalis* culture. In each plate four equally distant orifices were made, each of them being filled with one of the materials. All tests were performed in triplicate. The plates were incubated in aerobiose for 48 h at 37°C. The inhibition hallos of bacterian growth were measured with a digital caliper and the average of each sealer was calculated. Results: *Sealer 26* displayed the highest value of inhibition both in saliva (average of 16.40mm for saliva 1 and 10.5mm for saliva 2) and in *E. faecalis* culture (average of 13.12mm), followed by *Fill Canal* (average of 10.55mm for saliva 1 and 6.95 for saliva 2 and 12.53mm for *Enterococcus faecalis*) and by the experimental sealer (average of 8.08mm for saliva 1 and 3.94mm for saliva 2 and 6,57 for *E. faecalis*). The *Real Seal* on the other hand was ineffective against *Enterococcus faecalis* and within limited antimicrobial activity towards the saliva (average of 4.00mm for saliva 1 and 0.90mm for saliva 2). Conclusion: It can be concluded that tested materials, *Sealer 26* and *Fill Canal* showed high antimicrobial activity against bacterias of *Streptococcus* and *Enterococcus* genus, followed by the experimental sealer that showed moderate activity. *Real Seal* was ineffective against such microorganisms.

Keywords | Endodontic, Dental pulp cavity, Microbiology.

RESUMO | Objetivo: Este estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de quatro cimentos endodônticos: *Fill Canal* (Technew, Brasil), *Sealer 26* (Dentsply, Brasil), *Real Seal* (SybronEndo, EUA) e um cimento experimental (SybronEndo, EUA). Metodologia: Placas de Petri contendo Ágar *Mitis-Salivarius* foram inoculadas com saliva humana de dois diferentes indivíduos (saliva 1 e 2) ou com uma cultura pura de *Enterococcus faecalis*. Em cada placa, foram confeccionados quatro furos equidistantes, sendo cada um preenchido com um dos materiais. Todos os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas em aerobiose, por 48h, a 37°C. Os halos de inibição do crescimento bacteriano foram medidos com um paquímetro digital e as médias para cada cimento foram calculadas. Resultados: O cimento *Sealer 26* apresentou as maiores médias de inibição tanto em saliva (média de 16,40mm para a saliva 1 e 10,53mm para a saliva 2) quanto na cultura de *E. faecalis* (média de 13,12mm), seguida pelo cimento *Fill Canal* (média de 10,55mm para a saliva 1, para a saliva 2 - 6,95mm e 12,53 para *E. faecalis*) e pelo cimento experimental (média de 8,08mm para a saliva 1, para a saliva 2 - 3,94mm e 6,57 para *E. faecalis*). Já o cimento *Real Seal* foi ineficaz contra *E. faecalis* e com limitada atividade antimicrobiana em frente à saliva (média de 4,00mm para a saliva 1 e 0,90mm para a saliva 2). Conclusão: Dentre os materiais testados, *Sealer 26* e *Fill Canal* demonstraram elevada atividade antimicrobiana contra bactérias dos gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus*, seguidos pelo cimento experimental, que apresentou atividade moderada. *Real Seal* foi ineficaz contra esses micro-organismos.

Palavras-chave | Endodontia; Cavidade pulpar; Microbiologia.

¹Doutorando em Endodontia da Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brasil.

²Professor do Curso do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brasil.

INTRODUÇÃO |

A terapia endodôntica visa, principalmente, à eliminação dos micro-organismos do sistema de canais radiculares por meio de um adequado preparo químico-mecânico, seguido de uma obturação tridimensional do canal radicular e do selamento coronário, objetivando também prevenir a reinfecção do espaço intrarradicular¹. Contudo a manutenção da infecção intrarradicular, mesmo após o preparo completo, já foi comprovada^{2,3}. Os espaços anatómicos mais propensos às infecções persistentes incluem túbulos dentinários, canais laterais, ramificações e deltas apicais⁴.

O prognóstico do tratamento endodôntico é fortemente melhorado pela eliminação ou redução da concentração de micro-organismos no sistema de canais radiculares⁵. Entretanto, a completa erradicação dos micro-organismos, apesar de desejável, ainda não é viável, devido à complexidade anatômica do sistema^{6,7}. Por conta disso, a diminuição considerável da quantidade de micro-organismos deve ser buscada, uma vez que auxilia na resposta do hospedeiro para o reparo dos tecidos perirradiculares⁸.

Diferentes materiais obturadores têm sido propostos na tentativa de aprimorar as propriedades da obturação endodôntica, porém, mesmo diante dessa plethora de materiais, até o momento não existe um material que cumpra todos os requisitos de um obturador ideal⁹. Nesse cenário, a busca pelo aperfeiçoamento de duas propriedades, o selamento e a atividade antimicrobiana, tem lugar de destaque.

De um lado, o selamento visa a proporcionar o aprisionamento da microbiota que porventura sobreviva ao preparo químico e mecânico, associado ou não à medicação intracanal, e impedir ou retardar a recontaminação do canal. De outro lado, a atividade antimicrobiana pode garantir a aniquilação dessa microbiota, pelo poder antimicrobiano dos cimentos endodônticos¹⁰. Nesse contexto de infecção residual, o papel antimicrobiano do cimento endodôntico é indispensável.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi comparar a atividade antimicrobiana de diferentes cimentos endodônticos, *in vitro*.

METODOLOGIA |

Quatro cimentos endodônticos foram testados no presente estudo: *Fill Canal* (Technew, Brasil), à base de óxido de zinco e eugenol; *Sealer 26* (Dentsply, Brasil), cimento resinoso que contém hidróxido de cálcio; *Real Seal* (SybronEndo, EUA), compósito de cura dual à base de

resina; e um cimento experimental (SybronEndo, EUA) de composição desconhecida, fornecido diretamente do fabricante para teste.

O método para mensurar a atividade antimicrobiana dos materiais foi o teste de difusão em Ágar. Nove placas de Petri contendo Ágar *Mitis-Salivarius* foram inoculadas com 0,1ml de saliva humana de dois diferentes indivíduos (saliva 1 e 2) ou com uma cultura pura de *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) em caldo triptico de soja, na mesma quantidade, com três placas para cada fonte microbiana. Em cada placa foram confeccionados quatro furos equidistantes, com 5mm de profundidade e 4mm de diâmetro, cada um preenchido com um dos materiais. Os cimentos foram manipulados no momento da inserção, de acordo com a recomendação de seus respectivos fabricantes e inseridos, ainda frescos, nas cavidades, de maneira que preenchessem completamente os furos, sem extravasamento.

A inserção dos materiais foi realizada no interior de uma câmara asséptica previamente desinfetada. Todos os materiais foram testados simultaneamente em cada placa. Uma placa extra, não inoculada, foi utilizada para controle negativo do meio de cultura. As placas foram incubadas em aerobiose, por 48h, a 37°C. Após esse período, as placas foram removidas da estufa e os halos de inibição do crescimento bacteriano, assim como o diâmetro da área preenchida pelo material obturador, foram medidos com um paquímetro digital (Digimess, China).

Para análise dos resultados, foi realizada a subtração das duas medidas e as médias para cada cimento foram calculadas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estácio de Sá (Projeto nº 0137.0.308.000-10).

RESULTADOS |

Dois cimentos demonstraram elevada atividade antimicrobiana contra bactérias dos gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus*. O cimento *Sealer 26* apresentou as maiores médias de inibição tanto para a saliva (média de 16,40mm para a saliva 1 e 10,53mm para a saliva 2) quanto para a cultura de *E. faecalis* (média de 13,12mm), seguido pelo *Fill Canal* (média de 10,55mm para a saliva 1, para a saliva 2 - 6,95mm e 12,53mm para *E. faecalis*). O cimento experimental apresentou atividade moderada (média de 8,08mm para a saliva 1, para a saliva 2 - 3,94mm e 6,57mm para *E. faecalis*). Já o cimento *Real Seal* foi ineficaz contra *E. faecalis* e com limitada atividade antimicrobiana em frente à saliva (média de 4,00mm para a saliva 1 e 0,90mm para a saliva 2).

Figura 1 - Placa de Ágar Mitis-Salivarius contendo os quatro cimentos testados.



Obs.: A linha pontilhada demarca a extensão do halo de inibição do crescimento bacteriano. Em ordem decrescente quanto à atividade antibacteriana: *Sealer 26* (S26), *Fill Canal* (FC), *Experimental* (EX) e *Real Seal* (RS).

DISCUSSÃO |

Apesar de os cimentos endodônticos não demonstrarem um selamento perfeito e atividade antimicrobiana ideal, os cimentos comumente utilizados na prática clínica são eficazes em reduzir significativamente a penetração de fluidos e bactérias em níveis compatíveis com o sucesso da terapia endodôntica¹, porque complementam a eliminação de micro-organismos residuais que sobreviveram ao preparo químico-mecânico e, conseqüentemente, aumentam a taxa de sucesso do tratamento endodôntico¹².

O método utilizado no presente estudo para avaliar a atividade antimicrobiana apresenta algumas limitações que incluem a atividade dependente da solubilidade e da difusibilidade da substância testada. Entretanto, nos canais radiculares essas duas propriedades também estão atreladas ao potencial antimicrobiano do material. Além disso, com o método de difusão em Agar, é possível testar os cimentos frescos, ou seja, a maneira como são utilizados na clínica, o que não é plenamente possível com outros métodos, como o teste de contato direto (REF). No presente estudo, o meio de cultura utilizado é específico para o crescimento de espécies bacterianas dos gêneros *Enterococcus* e *Streptococcus*, importantes membros da microbiota relacionada com infecções endodônticas. Contudo, outros micro-organismos presentes nas amostras de saliva não puderam ser cultivados e, portanto, a atividade antimicrobiana contra esses desconhecidos micro-organismos não pôde ser aferida.

Enterococcus faecalis é uma bactéria de destaque em infecções endodônticas em virtude da sua elevada ocorrência em periodontites apicais persistentes³. Além disso, é altamente resistente a medicamentos intracanalais^{14,15}. Esse micro-organismo apresenta resistência a elevados níveis de pH, adaptando-se por meio de uma bomba de prótons capaz de acidificar o citoplasma bacteriano¹⁶. Além disso, sua capacidade de formar biofilme em canais radiculares já foi comprovada¹⁷. Por essas razões, esse micro-organismo foi incluído neste estudo¹⁸.

Pizzo *et al.*¹⁸ mostraram que o AH Plus apresentou atividade antibacteriana apenas quando fresco, mas 24h e 7 dias após a presa não se verificou efeito contra *Enterococcus faecalis*. Resultados similares foram relatados por Kayaoglu *et al.*¹⁹.

Quanto ao *Real Seal*, um estudo prévio não evidenciou atividade antimicrobiana satisfatória. Em alguns casos, até aumentou o crescimento bacteriano²⁰. Outro estudo, agora testando o sistema *Epiphany* (à base de resina e também de cura dual), que utiliza os cones resilon, evidenciou menor atividade antimicrobiana desse sistema quando comparado com outros cimentos endodônticos (*Endomethasone*, *Sultan*, *Sealapex* e *Diaket*) com exceção do AH26, o qual apresentou pior resultado²¹. Esses achados corroboram os resultados do presente estudo.

Em conclusão, os resultados do presente estudo mostraram que o cimento endodôntico *Sealer 26* e o *Fill Canal* apresentaram elevada atividade antimicrobiana, seguidos pelo cimento experimental, com atividade moderada. Já o cimento *Real Seal* foi ineficaz contra os micro-organismos testados.

REFERÊNCIAS |

- 1 - Hammad M, Qualtrough A, Silikas N. Extended setting shrinkage behavior of endodontic sealers. *J Endod* 2008; 34(1): 90-3.
- 2 - Lin LM, Skrinbner JE, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J Endod* 1992; 18: 625-7.
- 3 - Vera J, Siqueira Jr JF, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod* 2012; 38(8): 1040-52.
- 4 - Vieira AR, Siqueira Jr JF, Ricucci D, Lopes WSP. Dentinal tubule infection as the cause of recurrent disease and late endodontic treatment failure: a case report. *J Endod* 2012; 38(1): 250-4.
- 5 - Baer J, Maki JS. In vitro evaluation of the antimicrobial

effect of three endodontic sealers mixed with amoxicilin. J Endod 2010; 36(7):1170-3.

6 - Siqueira Jr JF, Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004; 97: 85-94.

7 - Sakamoto M, Siqueira Jr JF, Rôças IN, Benno Y. Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. Oral Microbiol Immunol 2008; 23: 275-81.

8 - Nair PN, Enry S, Cano V, Vera. Microbi status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod 2005; 9: 231-52.

9 - Whitworth J. Methods of filling root canals: principles and practices. Endod Topics 2005; 12:2-24.

10 - Cobankara FK, Altinöz HC, Ergani O, Kav K, Belli S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. J Endod 2004; 30: 57-60.

11 - Hoelscher A, Bahcall JK, Maki JS. In vitro evaluation of the antimicrobial effect of a root canal sealer-antibiotic combination against *Enterococcus faecalis*. J Endod 2006; 32(2): 145-7.

12 - Zhang H, Shen Y, Ruse D, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. J Endod 2009; 35(7): 1051-5.

13 - Nacif, Alves FF. *Enterococcus faecalis* na endodontia: um desafio ao sucesso. RBO 2010; 67(2): 209-14.

14 - Spangberg LSW, Haapasalo M. Rational and efficacy of root canal medicaments and root filling materials with emphasis on treatment outcome. Endod Topics 2002; 2: 35-58.

15 - Mickel AK, Nguyen TH, Chogle S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. J Endod 2003; 29(4): 257-8.

16 - Evans M, Davies JK, Sundqvist G. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J 2002; 35(3): 221-8.

17 - Distel JW, Hatton F, Gillespie M. Biofilm formation in medicated root canals. J Endod 2002; 28(10): 689-93.

18 - Pizzo G, Giammanco GM, Cumbo E, Nicolosi G, Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. J Dent 2006; 34: 35-40.

19 - Kayaoglu G, Erten H, Alacam T, Orstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. Int Endod J 2005; 38: 483-8.

20 - Slutzky-Goldberg I, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, Weiss EI, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. J Endod 2008; 34(6): 735- 8.

21 - Bodrumlu E, Semiz M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. J Can Dent Assoc 2006; 72: 637.

Correspondência para/ Reprint request to:

Renata Costa Val Rodrigues

Av. Salvador Allende, 6300 bl 01/ 502

Recreio dos Bandeirantes - Rio de Janeiro - RJ

CEP: 22780-160

E-mail: recostaval@gmail.com.br

Recebido em: 5-4-2012

Accito em: 20-9-2012