



AVALIAÇÃO DA INFILTRAÇÃO MICROBIANA EM CIMENTO OBTURADOR ENDODÔNTICO À BASE DE MTA

Alini Leopoldo da Silva Panerari¹, Mara Cristina Vasconcelos Horvath², Fausto Rodrigo Victorino³

RESUMO: O presente estudo avaliou a infiltração microbiana em obturações endodônticas realizadas com três diferentes cimentos: MTA Fillapex® - Grupo I, Sealer 26® - Grupo II e AH Plus® - Grupo III, com ênfase para o Cimento MTA Fillapex®, lançado recentemente no mercado e com poucos estudos. Os microrganismos utilizados foram *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Cada grupo foi composto por dezoito raízes de dentes humanos extraídos de canal único e reto. As mesmas foram instrumentadas e obturadas de acordo com cada cimento. Foi confeccionado um dispositivo adaptando-se as raízes na porção inferior de tubos Eppendorf® de modo que dois terços se projetem para fora do tubo plástico. A junção entre raiz e tubo foi selada com araldite, cianoacrilato e esmalte para unhas. O dispositivo Eppendorf e raiz obturada foram fixados em frasco tipo penicilina, contendo 7ml de caldo estéril "Brain heart infusion". Os microrganismos foram transferidos para a porção superior do tubo. Todos os conjuntos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C e, a cada sete dias, a suspensão de microrganismos foram renovadas. A leitura foi realizada a cada 24h, durante 60 dias, avaliando a ocorrência de turvação no meio de cultura. Os resultados foram submetidos ao teste estatístico Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Aproximadamente 63% das amostras infiltraram ao final dos 60 dias. Quanto ao tempo necessário para a infiltração não houve diferença significativa entre os cimentos obturadores. Com relação aos microrganismos utilizados o que apresentou maior capacidade infiltrativa foi o *Enterococcus faecalis*, seguido da *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

PALAVRAS-CHAVE: Cimento endodôntico, infiltração dentária, obturação radicular.

1 INTRODUÇÃO

O insucesso no tratamento endodôntico está diretamente ligado à sobrevivência de microrganismos no terço apical do canal radicular, e ou a migração destes para o ápice por falhas na técnica de instrumentação, irrigação ou obturação (MAEDA et al. 2007).

Constituindo etapa final da terapia endodôntica, a obturação tem o objetivo de preencher e selar hermeticamente o sistema de canais, evitando assim sua recontaminação ou a proliferação dos microrganismos que sobreviveram ao preparo químico-mecânico (LEONARDO et al. 1998).

Alguns microrganismos possuem a capacidade de permanência e proliferação no sistema de canais radiculares estando associados ao insucesso do tratamento endodôntico entre eles *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. (SILVA et al. 2007, DUART et al. 1997.)

O Agregado de Trióxido Mineral (MTA), foi inicialmente introduzido na endodontia para o selamento de perfurações radiculares e retroobturações por suas propriedades

¹ Acadêmica do Curso de Odontologia do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR, Maringá - Paraná. Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Ccesumar (PROBIC). alinipanerari@hotmail.com

² Cirurgiã-Dentista graduada pelo Centro Universitário de Maringá - CESUMAR, Maringá - Paraná. maraHorvath@hotmail.com

³ Orientador, Professor e Doutor do Curso de Odontologia do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR. Maringá - Paraná. frvictorino@ig.com

físico-químicas e biológicas favoráveis (GOMES FILHO et al. 2009, BOGEN & KUTLER 2009). Para utilizá-lo como cimento obturador, foi necessário aprimorar sua formulação para melhorar seu escoamento, tempo de presa e força de adesão (CAMILLETTI 2009). O MTA Fillapex (Angelus, Londrina-PR, Brasil) é um cimento obturador à base de MTA, recém-lançado no mercado brasileiro com poucos estudos a respeito de suas propriedades físico-químicas e biológicas.

2 OBJETIVO

Avaliar a infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com os cimentos endodônticos MTA Fillapex, Sealer 26 e AH Plus.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 60 dentes humanos unirradiculados extraídos, sob a aprovação do Comitê de Ética do Cesumar com parecer número 112.806, que apresentaram, ao exame visual e radiográfico, canal único, reto, com rizogênese completa e ausência de tratamento endodôntico prévio. Após a devida limpeza das superfícies externas dos dentes, os mesmos foram autoclavados. Em seguida, divididos de acordo com o cimento obturador utilizado, em: Grupo 1 – MTAfillapex[®]; Grupo 2 – Sealer 26[®]; Grupo 3 – AH Plus[®], Grupo 4 - controle negativo e Grupo 5- controle negativo, livres de preparo radicular e, portanto, sem qualquer cimento obturador.

Nos grupos 1, 2 e 3 foram realizados preparos endodônticos com sistema rotatório Protaper[®] (Dentsply), utilizando como lima memória #40K (Dentsply[®]), irrigação com hipoclorito de sódio 1% e limpeza final com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 17% e hipoclorito de sódio. Todos os dentes tiveram suas coroas cortadas de modo que os remanescentes radiculares apresentassem o mesmo comprimento (FIGURA 1A). Para a obturação dos canais foi realizada técnica da Condensação Lateral, com cones de gutapercha e os respectivos cimentos obturadores. Tomadas radiográficas foram realizadas para confirmar a qualidade das obturações.

Para a análise microbiológica, os espécimes foram montados em dispositivos conforme apresentado na FIGURA 1B a D. Os espaços entre a superfície radicular e a parte externa do Eppendorf[®], assim como deste com a tampa de borracha, foram selados com resina epóxi (Araldite[®], Boituva, Brasil), éster cianoacrilato de etila (SuperBonder[®], 3M, Ribeirão Preto, Brasil) e esmalte para unhas (Colorama[®]), cada qual com o intervalo de 1h. Na superfície interna, entre a estrutura dentária e o Eppendorf[®], aplicou se também o esmalte para unhas. O conjunto foi esterilizado em óxido de etileno. Nos frascos de vidro foram introduzidos 7mL de meio BHI estéril e, para assegurar a eficácia da esterilização, os mesmos foram mantidos 24h em estufa. Decorrido esse período, em câmara de fluxo laminar, os conjuntos dente/tubo Eppendorf[®]/tampa de borracha foram acoplados aos frascos de vidro. As raízes ficaram cerca de 3mm imersas no meio de cultura e finalmente, realizou-se o selamento entre a tampa de borracha e o frasco de vidro.

Foi realizada a inoculação de *Enterococcus faecalis* (ATCC: 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC: 27883) e *Candida albicans* (ATCC: 90028) em suspensão em soro fisiológico estéril, com turvação compatível com o tubo 0,5 de McFarland. A suspensão de cada microrganismo foi adicionada ao BHI, correspondendo a 30% da mistura e, assim, seis dentes de cada grupo receberam 500µL de cada inóculo na câmara superior do Eppendorf[®], formando três subgrupos de acordo com os microrganismos utilizados (FIGURA 1D).

O grupo controle positivo foi composto por seis dentes abertos, com os canais vazios e não instrumentados, sendo dois para cada inóculo. O grupo controle negativo também foi composto por 6 dentes abertos, com os canais vazios e não instrumentados, contudo sem nenhum inóculo.

Todos os conjuntos foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C e, a cada sete dias, a suspensão de microrganismos da câmara superior do Eppendorf® foi renovada. A leitura foi realizada a cada 24h, durante 60 dias, avaliando-se a ocorrência de turvação no meio de cultura na parte do tubo correspondente ao ápice dentário. Se positivo, amostras foram recolhidas para confirmação morfológica e tintorial do microrganismo, pela análise microscópica. A cada sete dias, confirmação da pureza e da viabilidade dos microrganismos localizados no compartimento superior dos dentes que não apresentaram turvação foi realizada. Para controle de eventual contaminação externa ao inóculo, conjuntos idênticos, mas sem micro-organismos foram preparados e mantidos na mesma estufa durante todo o período experimental.

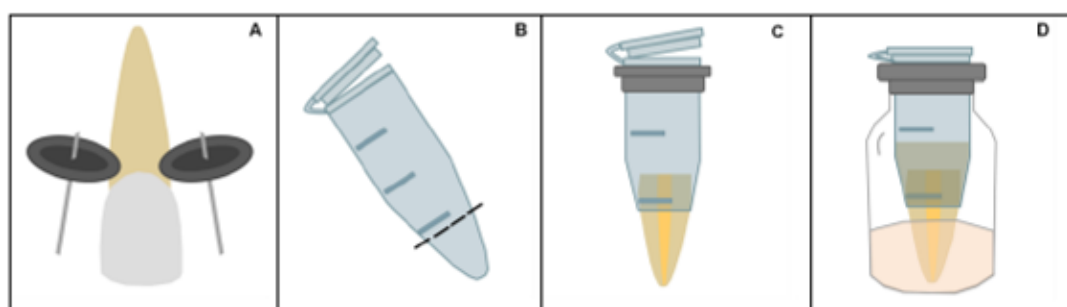


Figura 1 - A: Corte das coroas dos dentes extraídos. **B:** Corte do micro-tubo eppendorf®. **C:** Início da montagem do dispositivo com micro-tubo, tampa de borracha perfurada e raiz já preenchida com a respectiva medicação intracanal. **D:** Montagem final do dispositivo, com o terço apical da raiz em contato com caldo BHI esteril. Dentro do micro-tubo, o terço cervical permanece completamente imerso no inóculo. (BAGATELI 2011)

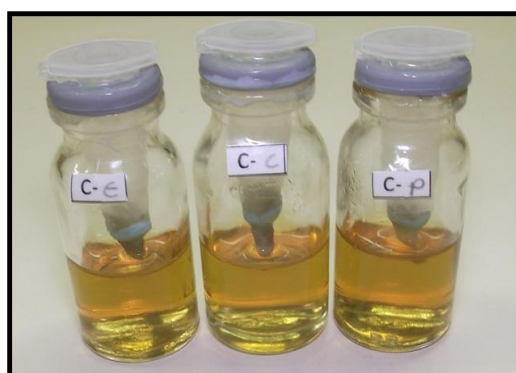


Figura 2: Dispositivos representativos dos controle negativos de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Pseudomas aeruginosa* respectivamente.

4 RESULTADOS

Os resultados das infiltrações estão apresentados na Tabela 1 e Figura A-1.

Tabela 1 – Distribuição do número de infiltrações microbianas nos cimentos endodônticos MTA Fillapex, Sealer 26, AH Plus e controles 1 e 2, de acordo com tempo.

Tempo Decorrido (dias)	MTA Fillapex (n: 18)			Sealer 26 (n:18)		AH plus (n:18)			Controle Positivo (n:6)			Controle Negativo (n:6)		
	C.a.	P.a.	E.f.	C.a.	P.a.	C.a.	P.a.	E.f.	C.a.	P.a.	E.f.	C.a.	P.a.	E.f.
1 a 5	1	1	1	1	1	1	2		2	2	2	-	-	-
6 a 10	1					1								
11 a 15	1					1								
16 a 20	1			1		1								
21 a 25				2										
26 a 30	2					1								
31 a 35	2					1								
36 a 40	1			1										
41 a 45	1			1	2									
46 a 50				1		1								
51 a 55	2													
56 a 60														
Total/m.o	4	5	5	3	1	6	2	5	3					
Total	77,77%			55,55%		55,55%			100%			0%		

Não houve diferença significativa entre os grupos, $p > 0,05$.

C.a.: *Candida albicans*; P.a.: *Pseudomonas aeruginosa*; E.f.: *Enterococcus faecalis*.

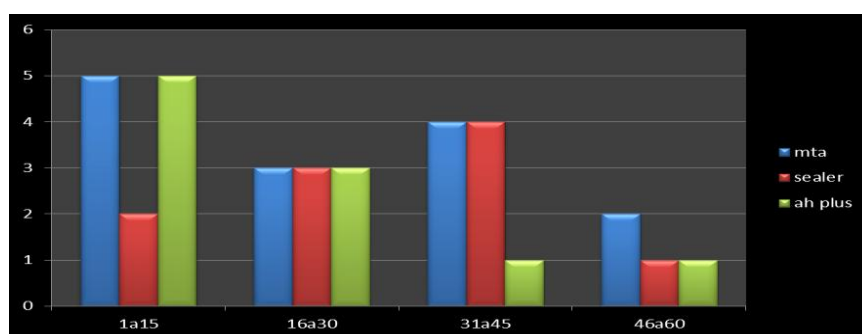


Figura A - 1 Distribuição das infiltrações de *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* em obturações realizadas com cimento MTA Fillapex, Sealer 26 e AH Plus de acordo com os tempos 1-5 dias, 16-30 dias, 31-45 dias e 46-60 dias.

5 DISCUSSÃO

A principal função do cimento obturador na obturação endodôntica é preencher o sistema de canais radiculares para assim impedir a recontaminação, por meio da entrada de fluidos, e sepultar os microrganismos remanescentes (ØRSTAVIC, 2005). Assim, a infiltração bacteriana marginal em obturações endodônticas tem sido considerada um fator de insucesso do tratamento endodôntico (HOMMEZ, COPPENS, DE MOOR, 2002). Por isso, quando um novo cimento obturador é desenvolvido faz-se necessário conhecer seu poder de selamento do sistema de canais.

No presente estudo, 8 ou 12,5% dos 54 espécimes dos grupos experimentais apresentaram infiltração nos primeiros 5 dias, o que está de acordo com a literatura, já

que outros autores (BARTHEL et al. 2006, MONTELLANO et al. 2006, PINHEIRO 2008) demonstraram em seus trabalhos que uma grande porcentagem de suas amostras apresentou turvação no início do período experimental.

Clinicamente, além da habilidade do operador, o único instrumento que dispomos para avaliar a qualidade da obturação é a imagem radiográfica. Neste experimento todos os remanescentes radiculares apresentavam radiograficamente obturações satisfatórias, bem condensadas e com ausência de falhas, entretanto segundo Siqueira Júnior et al. existe uma pobre correlação entre a qualidade da obturação do canal e a imagem radiográfica.

Ao final de 15 dias de leitura, observou-se a turvação de 27,8% amostras de MTA, 11,1% de Sealer 26 e 27,8% de AH Plus. Passados 30 dias observou-se igualmente a turvação de 44,4% amostras de MTA fillapex e AH plus e apenas 27,8% de Sealer 26. Com 45 dias de leitura ocorreu turvação em 66,67% amostras de MTA fillapex, 50% de AH plus e Sealer 26.

Ao final dos 60 dias o cimento que mais permitiu maior infiltração na condição do ensaio foi o MTA fillapex com 14 das 18 amostras infiltradas, totalizando uma infiltração em 77,78%, seguido em igual proporção de 10 das 18 amostras pelos cimentos AH plus e Sealer 26, totalizando uma infiltração de 55,55% cada, sem diferença significativa entre os grupos.

Observamos que alguns autores também observaram infiltração radicular em canais obturados em um curto período de tempo. Khayat et al 1993., observou 100% de infiltração em um período de 48 dias, Torabinejat et al. 1990, verificou 100% de infiltração em 73 dias. Já outros autores terminaram seu período experimental com algumas amostras resistentes a infiltração microbiana. Gilbert et al.2001, encontrou 85% de infiltração em 84 dias e Barrieshi et al. 1997, 85% de infiltração em 90 dias.

O grupo controle positivo, onde os dentes não sofreram processo de instrumentação e obturação apresentaram infiltração bacteriana em todas as espécies em 24 horas como os trabalhos de PINHEIRO, 2008; SANDEURS et al. 2004; SHIPPER et al. 2004. O infiltrante foi submetido à comprovação morfológica e tintorial onde a pureza do material foi observada em todos os tubos denotando sucesso na manipulação das amostras e eficácia da esterilização prévia dos dentes pelo óxido de etileno. No grupo controle negativo, não foi observada turvação em nenhum dos frascos durante o período experimental, demonstrando sucesso no processo de montagem e colagem asséptica do dispositivo.

Segundo Miletic et al.2002, em estudos de infiltração, o número de microrganismos que causam turvação do meio não pode ser determinado. Em algumas amostras apenas poucos microrganismos podem ter infiltrado levando a turvação do meio de cultura, enquanto em outro, muitos microrganismos podem ter infiltrado e levado a turvação. Ao analisar estudos de infiltração microbiana, caracteriza-se a observação de grande importância, não só a porcentagem de espécimes infiltrantes, mas também o tempo decorrente para que as infiltrações ocorram, sendo tanto melhor os resultados quando mais demorada a infiltração.

Com relação aos microrganismos utilizados ao final do período experimental o que apresentou maior capacidade de infiltração foi o *Enterococcus faecalis*, seguido da *Pseudomonas aeruginosa* e da *Candida albicans* com 83,33%, 61,1% e 50% das amostras infiltradas respectivamente. Contudo após submissão ao teste não paramétrico Kruskal- Wallis não houve diferença significativa entre os cimentos testados ao final dos 60 dias, testando-se juntamente todas as variáveis, ou analisando os microrganismos isoladamente para cada cimento como apresentado nos resultados.

Ao fato de *Enterococcus faecalis* pela análise descritiva ter apresentado uma porcentagem de infiltração superior à *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*,

podemos sugerir a hipótese entre outros fatores de que o tamanho do microrganismo pode ter relação com a capacidade infiltrativa do mesmo onde apresentam 0.6 μ , 3.0 μ e 8.0 μ respectivamente. (ROCAS, 2004; TRABULSI, 2008; LARONE, 2002). Assim o tamanho tornar-se-ia inversamente proporcional a capacidade infiltrativa do microrganismo.

Analisando a maior capacidade infiltrativa do *Enterococcus faecalis* deve-se ponderar sobre sua capacidade de penetrar nos túbulos dentinários, habilidade esta não demonstrada por outras espécies bacterianas. (ZOLETTI et al. 2006 e ROCAS et al. 2004). Do ponto de vista microbiológico apresentam pouca exigência para seu crescimento. (FIGDOR et al.2003). Apresentam resistência aos efeitos antimicrobianos do hidróxido de cálcio, provavelmente devido ao eficiente sistema de bombeamento de prótons que mantém níveis de pH citoplasmático ótimos dificultando o tratamento endodôntico.(KAYAOGU et al.2004 e EVANS et al. 2002) . Além de todas estas agravantes características ainda possui a habilidade de formação de biofilme que permite a colonização de superfícies tanto inertes como biológicas; que se extrapolados para a clínica os protege contra agentes antimicrobianos e ação de fagócitos.(BALDASSARI et al.2005).

Com relação ao resultado de infiltração dos cimentos, analisando as características dos mesmos podemos observar que devido ao fato do estudo ser em vitro não são aproveitadas todas as características do MTA Fillapex® que possui a proposta de aliar a capacidade seladora dos cimentos estruturados a partir de resinas e o efeito indutor de reparação biológica do agregado trióxido mineral mas esta só observada em vivo pela existência de relativa umidade dos túbulos dentinários. CARDOSO et al. 2003 relata a dinâmica de reparo do MTA onde o óxido de cálcio do pó do MTA em contato com os fluidos tissulares se dissociam em íons cálcio e hidroxila. Os íons cálcio reagindo com o gás carbônico dos tecidos, dariam origem a granulações de calcita. Junto a essas granulações haveria acúmulo de fibronectina, a qual permitiria adesão e diferenciação celular. Na sequencia teríamos a formação de uma ponte de tecido duro.

Considerando as limitações de pesquisas laboratoriais, os achados do presente estudo podem ser extrapolados para a prática clínica, pois o cimento endodôntico deveria evitar a infiltração bacteriana nos casos em que se perde o selamento coronário, mas o que se observa é que a obturação é capaz apenas de impedir por um período de tempo a percolação de microrganismos, permitindo que os mesmos cheguem no periápice.

6 CONCLUSÃO

Considerando a metodologia empregada e os resultados deste estudo, pode-se dizer que não houve diferença entre os cimentos avaliados e que todos são passíveis de infiltração microbiana e o microrganismo mais infiltrante foi o *Enterococcus faecalis*. Invariavelmente a obturação se tornará susceptível a penetração bacteriana quando houver deficiência ou falta do selamento coronário por melhor que seja a capacidade seladora do cimento endodôntico.

REFERÊNCIAS

BAGATELI, E.C. J. Eficácia ex vivo de uma medicação intracanal a base de própolis na desinfecção de túbulos dentinários e na contenção da infiltração microbiana. 2011. 51f. (Dissertação em Odontologia Integrada) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

- BALDASSARRI, L.; CRETÍ, R.; MONTANARO, L.; OREFICI, G. ARCIOLA, C. R. Pathogenesis of implant infections by enterococci. *International J Artif Organs*. v.28, p.1101-1109, 2005.
- BAUMGARTNER, G; ZEHNDER M, Paqué, F. *Enterococcus faecalis* type strain leakage through root canals filled with gutta-percha/AH Plus or Resilon/Epiphany. *Journal Odontology Endodontic*. v.33, p.45-47, January. 2007.
- BARTHEL, C. R.; ZARITZKI, F.F.; RAAB,W.H.; ZIMMER,S. Bacterial leakage in roots filled with different medicaments and sealed with cavit. *Journal Endodontic*.v. 32, p.127-129, 2006.
- BOGEN G, KUTTLER S. Mineral Trioxide Aggregate obturation: A review and case series. *Journal Endodontic*, v.35, n.6, p.777-790, 2009.
- DUART, H. A. M.; WECKWERTH,H.P.; MORAES, G. I. Análise da ação antimicrobiana de cimentos e pastas empregados na prática endodôntica. *Revista de odontologia da Universidade de São Paulo*. v.11, n.4, p.299-305, out/ dez. 1997.
- EVANS, M.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*. v. 35, p.221-228, 2002.
- FERNANDES, P. T. Propriedades do mineral trióxido agregado. 2007. 28f. Monografia. (Especialização em Endodontia) – Centro Universitário do Norte Paulista, São José do Rio Preto. 2007.
- FIGDOR, D.; DAVIES J. K.; SUNDQVIST G. Starvation survival, growth, and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral microbiology Immunology*. v.18, p. 234-239, 2003.
- GILBERT, S.D.; WITHERSPOON, D.E.; BERRY, C.W. Coronal leakage following three obturation techniques. *International Endodontic Journal*. v.34, p. 293-299, 2001.
- GOMES-FILHO J.E, WATANABE S, BERNABÉ PFE, COSTA MTM. A Mineral Trioxide Aggregate sealer simulated mineralization. *J Endod*, v.35, n.2, p.256-260, 2009.
- HOMMEZ, G.M.; COPPENS,C. R.; DE MOOR, R. J. Periapical health related to the quality of coronal restorations and root fillings. *International Endodontic Journal*. v. 35, n.8, p.680-690. 2002.
- KHAYAT, A.; LEE, S, J.; TORABINEJAT, M. Human saliva penetration of coronally unsealed obtured root canals. *Journal of endodontic*. v.19, p.458-461,1993.
- KAYAOGU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev. Oral Med.* ,v.15, p. 308-320, 2004.
- LARONE, D. H. Medically important fungi: a guide to identification. 4 ed. Washington:

ASM Press, 2002. 409 p.

LEONARDO, M. R.; LEAL, J. M. Endodontia: tratamento de canais radiculares. 3 . ed. São Paulo: Panamericana, 1998. 902 p.

MILETIC, I.; PRPI-MEHICIĆ, G.; MARSAN, T.; TAMBIĆ-ANDRASEVIĆ, A.; PLESKO, S.; KARLOVIĆ, Z. Bacterial and fungal microleakage of AH26 and AH Plus root canal sealers. International Endodontic Journal. v.35, p.428-432, 2002.

MAEDA, S. T.; SAMPAIO, J. M. P.; CRASTECHINI, da S. K. Avaliação “in vitro” da infiltração marginal apical após a obturação de canais radiculares empregando-se cimentos contendo hidróxido de cálcio. Revista Odonto. Revista da Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo do Campo.v.15, n. 30, p. 47-54, jul-dez,2007.

PINHEIRO, R. C. Avaliação da infiltração bacteriana corono-apical de canais radiculares obturados com diferentes cimentos endodônticos. 2008. 109 f. Dissertação (Mestrado em endodontia). Faculdade de Odontologia de Araraquara/Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2008.

ØRSTAVIK, D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. Endodontic topics. v.12, n.1, p.25-38, 2005.

ROCAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F. JR.; SANTOS, K. R. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. Journal Endodontic. v.30, p. 315-320, 2004.

TRABULSI, I. R. Microbiologia. 5ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 760p.

TORABINEJAD, M.; UNG, B.; KETTERING, J. D. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. Journal of Endodontic.v.16, p.566-569, 1990.

ZOLETTI, G.O.; SIQUEIRA, J. F. JR.; SANTOS, K.R. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture- dependent and-independent approaches. Journal Endodontic. v.32, p. 722-726, 2006.