

**GABRIELA SPECK DA ROSA  
HIDENE LEONIDA GOMES ANTONIO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO SILICATO TRICÁLCICO  
CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à banca examinadora da  
Universidade do Extremo Sul Catarinense  
(UNESC).

Orientadora: Professora Mestre Anarela  
Bernardi Vassen

**CRICIÚMA  
2019**

## ARTIGO: VERSÃO EM PORTUGUÊS

### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO SILICATO TRICÁLCICO CONTRA ENTEROCOCCUS FAECALIS

---

Evaluation of antimicrobial activity of a tricalcium silicate against Enterococcus faecalis

Gabriela Speck da Rosa <sup>1</sup>  
Hidene Leonida Gomes Antonio <sup>1</sup>  
Josiane de Almeida <sup>2</sup>  
Fabiana Soares Grecca <sup>3</sup>  
Patrícia Maria Poli Móra Kopper <sup>3</sup>  
Marlowa Marcelino Crema <sup>4</sup>  
Anarela Vassen Bernardi <sup>4</sup>

#### Vinculação do artigo

Curso de Odontologia. Universidade do Extremo Sul Catarinense - Criciúma-SC

#### Endereço para correspondência

Anarela Bernardi Vassen  
Curso de Odontologia –Universidade do Extremo Sul Catarinense  
Av. Universitária, 1105  
Criciúma – SC – Bairro Universitário  
CEP – 88806-000  
E-mail: anarela.bernardi@hotmail.com

\*Artigo formatado conforme normas do **Quintessence International** (Formatação versão 2019).

---

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Odontologia na Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil.

<sup>2</sup> Professora do Curso de Odontologia da Universidade do Sul de Santa Catarina, Palhoça, Santa Catarina, Brasil. Pós-doutoranda em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup> Professora do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Doutora, Mestra e Especialista em Endodontia.

<sup>4</sup> Professora do Curso de Graduação e Pós-graduação em Odontologia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina, Brasil. Mestra e Especialista em Endodontia.

## RESUMO

Os cimentos a base de silicato são considerados bioativos pois promovem uma interação com o sistema biológico estimulando a formação de tecido reparador e induzindo a biomineralização. A manutenção ou o desenvolvimento de periodontites apicais, após o tratamento endodôntico, tem sido atribuído a fatores relacionados com a presença e virulência de bactérias e fungos no sistema de canais radiculares e/ou tecidos periapicais. O presente estudo tem como principal objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do principal componente do cimento a base de silicato, o silicato tricálcico. Os grupos foram divididos: Grupo 1 – Clorexidina 2% (controle positivo), Grupo 2 - Silicato tricálcico bruto Grupo 3 – Silicato tricálcico moído, Grupo 4 – Silicato tricálcico super moído, Grupo 5 – água ultrapura (controle negativo), Grupo 6 – Bioroot RCS™. A linhagem-teste escolhida foi *Enterococcus faecalis*. O teste da atividade antimicrobiana utilizou o método de difusão em ágar de Müller-Hinton. Após 48 horas, os grupos G2, G3, G4 e G6 não apresentaram atividade antimicrobiana, apenas o G1. Conclui-se que o silicato tricálcico com diferentes tamanhos de partícula não apresentam atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus faecalis* utilizando esta metodologia.

**Palavras-chave:** Ação antimicrobiana, cimento de silicato, *Enterococcus faecalis*.

## INTRODUÇÃO

Os cimentos hidráulicos a base de silicato têm sido muito utilizados em Endodontia devido a sua propriedade bioativa<sup>1,2,3,4</sup> promovendo uma interação com o sistema biológico estimulando o reparo tecidual e induzindo a biomineralização.<sup>5</sup>

O agregado trióxido mineral (MTA) é o mais pesquisado até o momento. O MTA é composto principalmente pelo cimento Portland<sup>6,7</sup> sendo constituído em média de 68% pelo principal componente e o mais reativo, o silicato de tricálcico (ST)<sup>8,9,10</sup>, além de outros componentes.<sup>11,12,13</sup>

A nova geração dos cimentos a base de silicato é chamada de biocerâmicos e oferecem duas formas de apresentação para aplicação clínica: reparadora e obturadora.

Os biocerâmicos reparadores como: o MTA Angelus (Angelus, Londrina, PR, Brasil), MTA Angelus HP (Angelus, Londrina, PR, Brasil), Neo MTA Plus (Avalon Biomed, Bradenton, FL, EUA), RetroMTA (BioMTA, Seoul, Korea) e Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fosses, França) são utilizados no tratamento de perfurações radiculares, capeamentos e pulpotomias, tratamento de dentes com rizogênese incompleta e ainda em retrobturações.<sup>14,15</sup>

Biocerâmicos obturadores como BioRoot RCS (Septodont, Saint Maur des Fosses, França), Bio-C Sealer Angelus (Angelus, Londrina, PR, Brasil) e MTA Flow (Ultradent, South Jordan, UT, USA), podem ser usados sozinhos ou combinados com a guta percha na técnica de cone único.<sup>16</sup>

O BioRoot RCS<sup>™</sup> (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, França) é um novo cimento obturador bioativo baseado na inovadora química de micro agregados minerais denominada “tecnologia ativa de biosilicato” e foi introduzido recentemente no mercado.<sup>17</sup> O BioRoot RCS é um cimento sem resina e sem eugenol, o que o torna diferente dos cimentos obturadores convencionais baseados em eugenol e resina.<sup>18</sup> Consiste em um pó composto por ST, óxido de zircônio e excipientes que são manipulados com uma solução aquosa de cloreto de cálcio e excipientes.<sup>17</sup> Tem propriedades hidrofílicas e permite aumentar os valores de pH maiores que 11.<sup>18</sup>

A composição de todos os biocerâmicos citados acima é composta principalmente por ST ao qual se assemelham da composição do MTA.<sup>19</sup> As propriedades físico-químicas específicas dos biocerâmicos são o que os tornam tão interessantes para o campo endodôntico principalmente ao seu perfil hidrofílico, em

que podem se estabelecer em um ambiente úmido, como a dentina.<sup>20</sup> E, também, por causa de seu escoamento, apresentando menor viscosidade e uma maior qualidade de vedação.<sup>20</sup>

Independentemente do tipo de cimento obturador a ser utilizado, as propriedades físico-químicas, biológicas e antimicrobianas devem ser sempre analisadas.

O cimento obturador deve proporcionar boa vedação mecânica e hermética do sistema de canais radiculares<sup>21</sup> e com o surgimento dos biocerâmicos podemos almejar uma vedação de origem biológica. Neste caso, o material obturador induz a formação do tecido duro pelas células do ligamento periodontal, isolando o canal radicular dos tecidos circundantes e estimulando os processos de cicatrização dos tecidos apicais danificados.<sup>22</sup>

A atividade antimicrobiana é outra propriedade fundamental devido à permanência de microrganismos residuais no canal radicular, mesmo após o preparo químico-mecânico e da aplicação do curativo de demora.<sup>21</sup> Desse modo, os cimentos devem eliminar a microbiota remanescente e produzir um adequado selamento dos túbulos dentinários e ramificações do sistema de canais radicular.<sup>21</sup>

*Enterococcus faecalis* é uma bactéria que pode permanecer mesmo após o tratamento endodôntico ser realizado, sendo que quando a bactéria fica aderida nos túbulos dentinários e sua remoção é considerada difícil.<sup>23</sup> Portanto, a propriedade antimicrobiana dos cimentos endodônticos possui sua devida importância, por causa da possibilidade de microrganismos resistirem mesmo após o tratamento, combater a proliferação de bactérias e fornecer um correto selamento, impedindo a penetração de microrganismos nos canais radiculares tratados.<sup>21</sup>

O presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do ST, principal componente dos biocerâmicos, em diferentes tamanhos de partículas contra *Enterococcus faecalis*.

## METODOLOGIA

Este estudo é caracterizado como quantitativo, experimental, *in vitro*. Foram considerados os preceitos éticos previstos na Resolução 466/2012/CNS quanto a submissão do projeto para análise do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos, tendo parecer favorável de número 3.214.714

Para o presente estudo foram utilizados os materiais abaixo:

- Silicato Tricálcico (Mineral Research Processing, Meyzieu, França) com diferente distribuição granulométrica das partículas;
- BioRoot RCS™ (Septodont, Saint-Maur-des-fossés Cedex, França);
- Riohex - Gluconato de Clorexidina 2 % (Indústria Farmacêutica Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil).

TABELA 1 – Os grupos experimentais

<b>GRUPOS</b>	<b>Tipo</b>	<b>Nome</b>
<b>1</b>	Controle positivo	Clorexidina 2%
<b>2</b>	Teste	ST bruto + água ultrapura
<b>3</b>	Teste	ST moído + água ultrapura
<b>4</b>	Teste	ST super moído + água ultrapura
<b>5</b>	Controle negativo	Água ultrapura
<b>6</b>	Teste	BioRoot RCS

Fonte: Dados do pesquisador, 2019.

A linhagem escolhida foi o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), o qual foi cultivado overnight (24 h) em TSB (Tryptic Soy Broth) a 37°C. Para formação do inóculo, bactérias na fase exponencial foram preparadas a partir de diluições 1:100 da cultura overnight em BHI (Brain Heart Infusion) fresco. A suspensão microbiana foi ajustada por espectrofotometria para atingir a absorvância (turbidez) de 0,1 em comprimento de onda de 625nm.

A partir da suspensão original, foram procedidas diluições para a obtenção de uma densidade ótica de 0,08 a 0,13 (UFC/ml) unidades formadoras de colônia por mililitros, aproximadamente ( $10^8$  UFC/ml / 0,5 na escala de McFarland). Placas de Petri esterilizadas, contendo aproximadamente 25mL de ágar Mueller-Hinton, foram plaqueadas com 1mL de cada suspensão bacteriana proveniente do inóculo, previamente agitadas no Vórtex para que todas as bactérias estejam em mesma

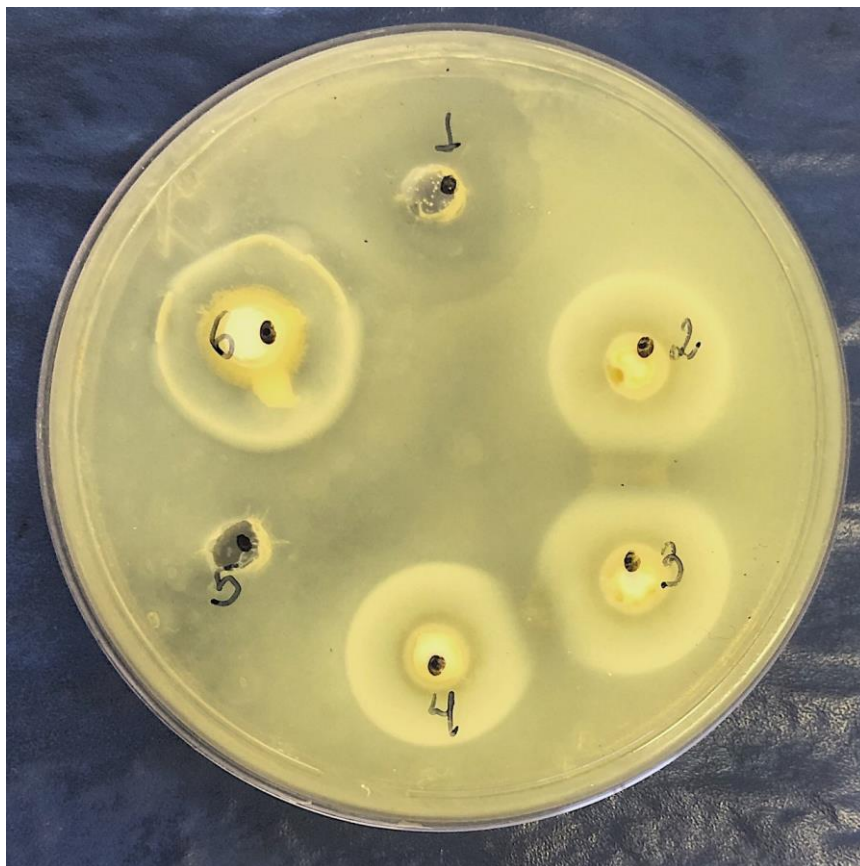
quantidade, o qual foi espalhado com a Alça de Drigalski estéril em toda extensão da placa. Foram feitas triplicatas e, em cada uma delas foram realizadas seis perfurações de aproximadamente, 3mm de profundidade e 5mm de diâmetro, em poços equidistantes, utilizando um perfurador de Cobre. Os grupos foram distribuídos nos poços de acordo com a TABELA 1. O ST foi manipulado em todos os grupos na proporção de 0,5 g para 350µL de água ultrapura em uma placa de vidro estéril, incorporando o pó ao líquido até se obter uma mistura homogênea. O grupo 6 (BioRoot RCS) foi manipulado de acordo com as normas do fabricante, onde foi utilizado uma medida da colher medidora que acompanha o cimento e 5 gotas do líquido em uma placa de vidro estéril. As porções de pó e líquido foram misturadas por 60 segundos, até obter uma mistura homogênea.

Todos os materiais manipulados, foram inseridos nos poços com auxílio de duas espátulas de manipulação simples número 24, e os dois grupos controles foram inseridos nos poços com auxílio de uma micropipeta de volume variável. Todo o experimento foi realizado próximo ao Bico de Bunsen e dentro de uma câmara de fluxo laminar, para garantir o ambiente estéril. As placas de Petri foram mantidas em temperatura ambiente por duas horas, para pré-difusão dos materiais. Em seguida, foram incubadas por 48 horas, a 37°C, em condições aeróbias.

## **RESULTADOS**

As amostras foram avaliadas 48 horas após a realização dos experimentos.

FIGURA 1 – Placa de Ágar



Fonte: Dados do pesquisador, 2019.

Comparando os materiais analisados, verificou-se que o grupo 1 (Clorexidina 2%) foi o único que apresentou halo de inibição, conforme (Figura 1). Em relação aos demais grupos, não houve relevância estatística.

TABELA 2 – Resultado da atividade antimicrobiana dos grupos avaliados

<b>Grupo</b>	<b>Tipo</b>	<b>Nome</b>	<b>Resultado</b>
1	Controle positivo	Clorexidina 2%	Com halo de inibição
2	Teste	ST bruto + água ultrapura	Sem halo de inibição
3	Teste	ST moído + água ultrapura	Sem halo inibição
4	Teste	ST super moído + água ultrapura	Sem halo inibição
5	Controle negativo	Água ultrapura	Sem halo inibição
6	Teste	BioRoot RCS	Sem halo inibição

Fonte: Dados do pesquisador, 2019.



## DISCUSSÃO

Os biocerâmicos são compostos principalmente de ST<sup>19</sup> e devem eliminar a proliferação bacteriana e promover um correto selamento dos canais radiculares.<sup>21</sup> A proposta deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do seu principal componente com diferentes tamanhos de partículas.

A atividade antimicrobiana é de extrema importância no combate dos microrganismos que podem permanecer nos canais radiculares mesmo após o tratamento endodôntico.<sup>24</sup>

Diante disso, utilizamos nesta pesquisa de atividade antimicrobiana a bactéria *Enterococcus faecalis*. O *Enterococcus faecalis* é uma bactéria anaeróbica gram-positiva facultativa, encontrada de 4 a 40% das infecções endodônticas primárias e de 24 a 77% das infecções endodônticas persistentes, por isso é comumente utilizada como um organismo modelo em estudos para avaliar a eficácia antimicrobiana de materiais utilizados na endodontia.<sup>25,26</sup>

Conforme já comprovado na literatura, o grupo controle positivo escolhido foi a clorexidina 2%<sup>27</sup> por apresentar atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*.<sup>25</sup> No estudo de Böttcher *et al.*<sup>29</sup> utilizou clorexidina na concentração de 2% contra *Enterococcus faecalis*, confirmando sua eficácia, que reduziu significativamente o número de colônias, até 30 dias após sua aplicação.<sup>29</sup> Outro estudo de Ma *et al.*<sup>29</sup> também avaliou a eficácia da clorexidina contra *Enterococcus faecalis*, e concluiu que, após irrigação com clorexidina (CHX) em concentração de 2%, não houve formação de novo biofilme, sendo reduzido assim as taxas de sobrevivência de *Enterococcus faecalis*.<sup>29</sup>

Os resultados do presente estudo demonstraram que o componente principal dos cimentos biocerâmicos não apresentou atividade antimicrobiana através do método de difusão em ágar contra *Enterococcus faecalis*, mesmo com tamanho de partículas diferentes. O único grupo que apresentou características antimicrobianas com a presença de halo de inibição foi o controle positivo (Clorexidina 2%).

A atividade antibacteriana dos cimentos obturadores é baseada principalmente em sua capacidade de liberar íons hidroxila e elevar os valores de pH.<sup>30</sup> Desta forma, o que pode ter ocorrido é que o pH e liberação de íons hidroxila pode ter sido prejudicado pelo método de difusão em ágar.<sup>31</sup>

De acordo com Weckwerth *et al.*<sup>32</sup> o *Enterococcus faecalis* apresenta capacidade de sobrevivência em ambientes altamente alcalinos, podendo sobreviver até 72h em ambiente com até pH de 12,5; que pode não ter sido alcançado pelo material proposto nos grupos testes.<sup>32</sup>

O teste de difusão em ágar é utilizado como método primário e padrão, apresenta fácil execução, e renomados estudos já utilizaram esta metodologia.<sup>33</sup>

No estudo de Abdulkader; Duguid; Saunders<sup>34</sup> citam que o teste de difusão em ágar é uma metodologia válida para cimentos biocerâmicos.<sup>34</sup>

Observamos nesta pesquisa que este tipo de metodologia não parece ser apropriado para cimentos biocerâmicos, pois foi observada difusão dos materiais testados no meio ágar, além de não demonstrar atividade antimicrobiana do grupo 6 (BioRoot RCS) que apresenta atividade antimicrobiana comprovada utilizando outra metodologia através dos estudos Arias-moliz; Camilleri<sup>35</sup> e Alsubait *et al.*<sup>31</sup> demonstrando a limitação do método difusão em ágar.

Uma opção de escolha, seria o teste por contato direto que não sofre influência das propriedades físicas dos materiais quando em contato com o gel do ágar.<sup>35,36,37</sup> Este teste consiste na determinação do crescimento cinemático microbiano pelo íntimo contato entre o microrganismo testado e o material, utilizando-se microplacas de cultura de células.<sup>37</sup>

Outra alternativa que a literatura já demonstra para cimentos biocerâmicos é a utilização de microscopia confocal de varredura a laser (CLSM), onde é desenvolvido um modelo tridimensional *in vitro* para avaliação quantitativa da viabilidade bacteriana em dentina após infecção e desinfecção dos túbulos dentinários, e a utilização de corante de viabilidade bacteriana.<sup>31</sup> Desta maneira, é possível testar biofilmes e não um microrganismo isoladamente como realizado neste estudo que difere de uma situação clínica.<sup>37</sup>

Sugere-se que novas metodologias devem ser testadas para avaliar a atividade antimicrobiana do principal componente dos biocerâmicos, silicato tricálcico com tamanho de partículas diferentes, pois não se pode concluir de forma absoluta sua ineficácia antimicrobiana através de uma metodologia primária e modelo bacteriano de uma única espécie.

## CONCLUSÕES

O ST com diferentes tamanhos de partícula não apresenta atividade antimicrobiana através do método de difusão em ágar contra *Enterococcus faecalis*.

## REFERÊNCIAS

- 1) Sarkar D, Swain SK, Adhikari S, Reddy BS, Maiti HS. "Synthesis, mechanical properties and bioactivity of nanostructured zirconia," *Materials Science and Engineering C*, vol. 33, no. 6, pp. 3413–3417, 2013.
- 2) Tay, FR *et al.* Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the portland cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid. *J Endod.* V.33, n.11, p.1347-51, 2007.
- 3) Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. *J Endod.* V.35, n.5, p.731-6, may.,2009.
- 4) Camilleri J, Catujar A, Mallia B. Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-endfilling material. *DentMater* 27:845–854, 2011.
- 5) Atmeh AR, Chong EZ, Richard G, *et al.* Dentin-cement interfacial interaction: calcium silicates and polyalkenoates. *J Dent Res* V.9, p.454–9, 2012.
- 6) Parirokh M, Torabinejad M. "Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action," *Journal of Endodontics*, vol. 36, no. 3, pp. 400–413, 2010.
- 7) Grazziotin-Soares R. *et al.* Effect of bismuth oxide on white mineral trioxide aggregate: chemical characterization and physical properties. *Int Endod J.* V.47, n.6, p.520-33, jun., 2014.
- 8) Belio-Reyes, Irma Araceli *et al.* Phase Composition of ProRoot Mineral Trioxide Aggregate by X-Ray Powder Diffraction. *Journal of Endodontics*. Mexico, p. 875-878. jun. 2009.
- 9) Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Science Direct*. Malta, p. 836-844. Ago. 2011.

- 10) Bosso-Martelo, Roberta *et al.* Calcium Silicate – Based Cements Associated with Micro and Nano particle Radiopacifiers: Physicochemical Properties and Bioactivity. International Scholarly Research Notices, [s.l.], v. 2015, p.1-7, 2015.
- 11) Lee S *et al.* Sealing Ability of a Mineral Trioxide Aggregate for Repair of Lateral Root Perforations. Journal of Endodontics. U.s.a., p. 541-544. nov. 1993.
- 12) Asgary S, Parirokh M, Eghbal M.J, F .BRINK, J ENDOD.31 (2005) 101. Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate.
- 13) Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review - Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. J Endod. 2010; 36:16-27.
- 14) Soares I, Goldberg F. Endodontia: Técnica e Fundamentos. 2 ed. Porto Alegre. Artmed: 2011.
- 15) Bogen G, Kuttler, S. Mineral Trioxide Aggregate obturation: a review and case series. J. Endod. 2009; 35: 777-90.
- 16) Koch KA, Brave D. Endosequence: melding endodontics with restorative dentistry, part 3. Dent Today. 2009, 28(3):88-90.
- 17) Septodont® [homepage] Saint Maur des Fosses – França. Disponível em: <https://www.septodontusa.com/sites/default/files/BioRoot-IFU.pdf>. Acesso em 5 de junho 2019.
- 18) Septodont® [homepage] Saint Maur des Fosses – França. Disponível em: <http://www.septodontusa.com/sites/default/files/BioRoot-Brochure.pdf>. Acesso em 5 de junho 2019
- 19) Tyagi S, Mishra P, Tyagi P. Evolution of root canal sealers: An insight story. European journal of dentistry. 2013; 2(3):199. Koch KA, Brave GD, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, part 2. Dentistry today. 2010; 29(3):98-100.
- 20) Koch KA, Brave GD, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, part 2. Dentistry today. 2010; 29(3):98-100.

- 21) Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares, princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2005.
- 22) Grossman L. Endodontic Practice, 10. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981:27–9.
- 23) Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 2008, 29: 2941–2953.
- 24) Barros J, Silva MG, Rôças IN, Gonçalves LS, Alves FF, Lopes MA, *et al.* Antibiofilm effects of endodontic sealers containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles. *J Endod* 2014; 40:1167–71.
- 25) Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: seu papel no fracasso do tratamento do canal radicular e conceitos atuais no retratamento. *J Endod*. 2006; 32: 93-8.
- 26) Gonçalves LS, Rodrigues RCV, Andrade Junior CV, Soares RG, Vettore MV. The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine as irrigant solutions for root canal disinfection: a systematic review of clinical trials. *J Endod* 2016; 42:527–532.).
- 27) Siqueira JR J, Rocas I. Exploiting Molecular Methods to Explore Endodontic Infections: Part 2—Redefining the Endodontic Microbiota. *Journal Of Endodontics*, [s.l.], v. 31, n. 7, p.488-498, jul. 2005. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).
- 28) Böttcher DE *et al.* Evaluation of the Effect of *Enterococcus faecalis* Biofilm on the 2% Chlorhexidine Substantivity: an in vitro study. *Journal of Endodontics*, United States, v. 41, n. 8, p. 1364-1370, aug. 2015.
- 29) Ma J *et al.* The Effects of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Irrigants on the Antibacterial Activities of Alkaline Media Against *Enterococcus faecalis*. *Archives of Oral Biology*, v. 60, n. 7, p. 1075-1081, apr. 2015.
- 30) Kapralos V *et al.* Antibacterial Activity of Endodontic Sealers against Planktonic Bacteria and Bacteria in Biofilms. *Journal Of Endodontics*, [s.l.], v. 44, n. 1, p.149-154, jan. 2018. Elsevier BV.
- 31) Alsubait S *et al.* Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: a

- confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology*, [s.l.], p.1-8, 29 mar. 2019.
- 32) Weckwerth PH *et al.* In vitro Alkaline pH Resistance of *Enterococcus faecalis*. *Brazilian dental Journal*, Brazil, v. 24, n. 5, p. 474-476, oct. 2013.
- 33) Torabinejad M, Ford TRP, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *Journal of Endodontics*. 1995; 21 (8): 403-6).
- 34) Abdulkader A, Duguid R, Saunders EM. Atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos em bactérias anaeróbias. *Int Endod J*. 1996; 29: 280-3.).
- 35) Arias-Moliz MT, Camilleri J. The effect of the final irrigant on the antimicrobial activity of root canal sealers. *Journal Of Dentistry*, [s.l.], v. 52, p.30-36, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2016.06.008>.
- 36) Siqueira JF Júnior, Favieri A, Gahyva SM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP. Atividade antimicrobiana e taxa de fluxo de cimentos endêmicos mais recentes e estabelecidos. *J Endod*. 2000; 26: 274-7.
- 37) Sassone LM *et al.* Atividade antimicrobiana de materiais reparadores de uso endodôntico pelos testes de difusão em ágar e por contato direto. *Rev. bras. odontol.*, Rio de Janeiro, v. 69, n. 1, p. 25-9, jan./jun. 2012.