

# AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E BIOLÓGICA DO CIMENTO PORTLAND ASSOCIADO AO AH PLUS EM DIFERENTES PROPORÇÕES

*Evaluation of antimicrobial and biological activities  
of Portland cement associated of AH Plus sealer in  
different proportions*

Rodrigo Ricci Vivan<sup>1</sup>

Marcela Vicentini Simonetti<sup>2</sup>

Amanda Berton<sup>2</sup>

Vanessa Raquel Greatti<sup>2</sup>

Joao Paulo Ximenes<sup>2</sup>

Leandro de Andrade Holgado<sup>2</sup>

Mariza Akemi Matsumoto<sup>2</sup>

Paulo Henrique Weckwerth<sup>2</sup>

Marco Antonio Hungaro Duarte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Odontológicos, Faculdade de Odontologia da USP, Bauru, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Centro de Ciências da Saúde, Universidade Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, Brasil.

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

## RESUMO

**Introdução:** A endodontia vem sofrendo um processo de evolução muito grande nos últimos anos. Apesar dessa grande evolução técnico-científica, infelizmente o tratamento endodôntico convencional ainda não possibilita a obtenção do sucesso total. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e a resposta do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. **Metodologia:** Para a avaliação da resposta biológica, foram utilizados 42 ratos

Recebido em: 14/09/2014

Aceito em: 07/11/2014

(*Rattus Norvegicus*), que foram divididos em 14 animais para cada período experimental. Para se avaliar a atividade antimicrobiana, foi utilizada a técnica de difusão radial em placas de ágar Mueller-Hinton. Foram utilizadas 30 linhagens de campo e 1 ATCC (29212) de *Enterococcus faecalis*. Os materiais foram proporcionados em massa e os poços preenchidos com os cimentos através de seringas tipo Luer-Look. Com os dados em mãos, os mesmos foram submetidos à análise estatística, empregando-se o teste Kruskal-Wallis para comparação global e o teste de Miller para as comparações individuais com nível de significância de 5%. **Resultados:** Quanto à resposta biológica, todos os grupos apresentaram bom comportamento. Em relação a atividade antimicrobiana, os grupos 4, 5 e 6 apresentaram atividade, tanto em 24, quanto em 48 horas, com diferença estatisticamente significativa com relação aos outros grupos. **Conclusão:** Conclui-se que a associação do AH Plus ao cimento Portland apresenta boa resposta tecidual e atividade antimicrobiana, principalmente nos grupo com maior quantidade de cimento AH Plus.

**Palavras-chave:** Cimento Portland. AH Plus. Atividade antimicrobiana. Biocompatibilidade.

## ABSTRACT

**Introduction:** *Endodontics has been suffering a long evolution process in recent years. Despite this great technical and scientific developments, unfortunately the conventional endodontic treatment hasn't allows obtaining the total success.* **Objective:** *the objective of the present study was to evaluate the antimicrobial activity and the response of the subcutaneous tissue against deployment of associated Portland cement to AH Plus sealer in different proportions.* **Methodology:** *for evaluation of biological response, 42 rats were used (*Rattus Norvegicus*), which were divided into 14 animals for each experimental period. To evaluate antimicrobial activity, was used the technique of radial diffusion in Mueller-Hinton agar plates. 30 field strains were used and 1 ATCC (29212) of *Enterococcus faecalis*. The materials were provided by weight and pits filled with the cements through syringes Luer-type Look. With data, they were subjected to statistical analysis, using the Kruskal-Wallis test for global comparison and the Miller test for individual comparisons with a significance level of 5.* **Results:** *as for biological response, all groups showed good behavior. In relation to antimicrobial activity, groups 4, 5 and 6 showed activity in both*

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

24, 48 hours, with statistically significant difference with respect to other groups. **Conclusion:** *It is concluded that the Association of AH Plus to Portland cement and tissue response presents good antimicrobial activity, mainly in the group with the highest amount of cement AH Plus.*

*Keywords: Portland Cement. AH Plus. Antimicrobial activity. Biocompatibility.*

## INTRODUÇÃO

Até a década de 70 a cirurgia parestodônica apresentava índices de sucesso que variavam de 50% a 70%. Essa alta margem de insucessos estaria relacionada aos procedimentos operacionais e aos materiais utilizados no selamento das cavidades retrógradas (RUD; ANDREASEN; JENSEN, 1972).

Assim, os materiais retrobturadores devem apresentar propriedades ideais, tanto físico-químicas quanto biológicas, para que se obtenha o melhor resultado quando de suas aplicações. Tais propriedades englobam um bom selamento marginal, estabilidade dimensional, insolubilidade frente aos fluidos tissulares, boa radiopacidade, fácil manipulação e inserção, tempo de presa curto, atividade antimicrobiana, biocompatibilidade, e, se possível, estimular o processo de reparo tecidual.

O gênero *Enterococcus* é um anaeróbio facultativo, fermentativo, Gram-positivo, com forma ovalada e com diâmetro de 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$ , encontrado no trato gastrointestinal de humanos e outras espécies, plantas, solo e sendo capazes, também, de colonizar o trato genitourinário e cavidade oral (KONEMAN *et al.*, 2001).

Das espécies de *Enterococcus*, o *Enterococcus faecalis* é o mais comumente detectado, estando presentes em infecções orais como periodontite marginal, infecções endodônticas e abscesso periradicular e fracassos endodônticos (ROÇAS *et al.*, 2004).

Com relação a biocompatibilidade, Oliveira *et al.* (2010) avaliaram a resposta biológica do cimento AH Plus associado a 5% de hidróxido de cálcio em subcutâneo de ratos. O período de análise foi de 14 dias. Concluíram que a adição de 5% de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus, melhorou o seu comportamento, produzindo reação inflamatória menos severa, quando implantados em subcutâneo de ratos.

Não há na literatura relatos sobre a associação do cimento Portland com o AH Plus, porém isso na invalida a proposta de união

dos dois, pois a literatura descreve inúmeros trabalhos nos quais há criação e/ou modificação de diversos cimentos retrobturadores.

Portanto, o objetivo desse trabalho é avaliar a resposta do tecido subcutâneo de ratos a implantação do cimento Portland associado ao cimento AH Plus em diferentes proporções e nas mesmas proporções, avaliar a capacidade antimicrobiana dos cimentos associados, para possibilitar alternativas ao clínico que exerce a Endodontia, em substituição ao MTA.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Os materiais testados serão o cimento Portland associado ao cimento AH Plus em diferentes proporções, os quais serão associados em massa, conforme a tabela 1:

Tabela 1- grupos experimentais

Grupos	Cimentos
Grupo 1	50% de cimento AH Plus + 50% de Portland
Grupo 2	60% de cimento AH Plus + 40 % de Portland
Grupo 3	70% de cimento AH Plus + 30% de Portland
Grupo 4	80% de cimento AH Plus + 20% de Portland
Grupo 5	90% de cimento AH Plus + 10% de Portland
Grupo 6	100% AH Plus.
Grupo 7	100% cimento Portland

A composição dos materiais a serem testados apresenta-se na tabela 2.

Tabela 2 - composição e fabricante dos materiais a serem testados

Cimento	Composição	Fabricante
Cimento Portland	Silicato tricálcico; silicato dicálcico; aluminato tricálcico; ferroaluminato tetracálcico; sulfato de cálcio hidratado; óxidos alcalinos; outros constituintes.	Votorantim Cimentos, São Paulo, São Paulo, Brasil.
AH Plus	Pasta A: resina epóxi; tungstênio de cálcio; óxido de zircônio; aerosil e óxido de ferro. Pasta B: amina adamantana; N, N-Diberncil-5-oxanonano-diamina-1,9; TCD-Diamina; tungsteanato de cálcio; óxido de zircônio; aerosil e óleo de silicone.	Dentsply/De Trey, Konstanz, Alemanha

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.

## Seleção dos animais e implantação dos materiais

Foram utilizados 42 ratos (*Rattus norvegicus albinus Holtzman*), adultos-jovens, pesando em média 250g (aproximadamente 75 dias). Os períodos experimentais foram de 7, 15 e 30 dias, nos quais empregou-se 14 animais por período.

Na realização da tricotomia, os animais foram anestesiados com *Cloridrato de Ketamina 0,08mL* e *Cloridrato de Xilazina 0,02mL*, na dosagem de 100mg/kg de peso corpóreo, injetando-se na região intra-peritoneal. E cada animal recebeu quatro tubos na região dorsal, dois do lado direito e dois no lado esquerdo.

Decorridos os períodos experimentais, os animais foram novamente anestesiados, nova tricotomia foi realizada e os tubos localizados por palpação seguida da remoção dos blocos de tecido adjacente aos mesmos, com margem de segurança. Após remoção dos tecidos, os animais foram mortos por overdose anestésica.

## Método de análise morfométrica

Os cortes histológicos foram analisados e fotografados em fotomicroscópio Olympus (BX – 50, Japan) para análise do quadro histopatológico ao redor do material implantado.

Realizou-se, também, a morfometria dos campos quanto à presença de célula inflamatória por meio de Software Image Pro Express 6.0 (Olympus, Japan), onde foi contado o número de células inflamatórias em uma área de 0,8 mm<sup>2</sup> (correspondente a extremidade do tubo) por animal que determinou uma média final do número de CI/mm<sup>2</sup>. Nesses diferentes grupos experimentais realizou-se a morfometria em três lâminas para cada tubo. Então, obteve-se uma média inicial para cada tubo (espécime). Depois, a partir da média de cada tubo foi realizada a média final (dos cinco tubos) por mm<sup>2</sup>.

## Atividade antimicrobiana

Foram avaliadas 30 estirpes de *Enterococcus faecalis*, sendo 30 cepas de campo e 1 ATCC (29212) pertencentes à bacterioteca do laboratório de Microbiologia da Universidade do Sagrado Coração. As mesmas foram previamente recuperadas por cultura bacteriológica de amostras da cavidade oral de pacientes atendidos no serviço de Endodontia da Clínica de Odontologia da mesma instituição. Todas as estirpes encontram-se congeladas a – 20°C e foram isoladas em

meio M-Enterococcus ágar (Difco®) e identificadas conforme fluxograma de identificação segundo Koneman *et al.*, 2001.

As estirpes foram ativadas em placas de M-Enterococcus ágar (Difco®) que foram incubadas em estufa bacteriológica a 36° C por 18-24 horas. A partir das placas, colônias foram repicadas para o caldo BHI (Oxoid®) até turvação total do meio.

Para se avaliar a sensibilidade bacteriana aos cimentos estudados, foi utilizada a técnica de difusão radial da substância sobre a superfície de placas de Mueller-Hinton ágar.

As bactérias testadas foram 30 de linhagens de campo e 1 ATCC (American Type Culture Collection), sendo uma estirpe de *Enterococcus faecalis* ATCC (29212). As estirpes foram retiradas da bacterioteca e ativadas sobre a superfície de placas de Brucella ágar suplementado com 5% de sangue de carneiro incubadas a 36° C por 24 horas. A partir dessas placas, 5 colônias foram transferidas para um tubo contendo 5 mL de caldo BHI que foram incubadas a 36°C “overnight”. A partir do crescimento, preparou-se em salina estéril o ajuste para a densidade ótica do padrão de turbidez da escala 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  Unidades Formadoras de Colônias /mL). Placas de Petri de 100 x 10 mm previamente preparadas com Mueller-Hinton ágar (Merck®) na espessura de 6 mm foram escavadas em poços com 5 mm de diâmetro por 3 mm de profundidade. Uma vez ajustada a densidade do inóculo, a semeadura foi feita por meio de zaragatoa de algodão estéril na superfície das placas, tomando-se o cuidado de não semear o interior das escavações. As placas foram colocadas em estufa por 30 minutos para secagem da superfície do meio de cultura antes da colocação dos cimentos. Após a espatulação, os poços foram preenchidos com os cimentos utilizando seringas tipo Luer-Look, e as placas foram deixadas 2 horas em temperatura ambiente para pré-incubação. Após, foram incubadas em estufa bacteriológica a 36° C, sob condições atmosféricas adequadas por 24 horas. Os halos de inibição foram mensurados com auxílio de um paquímetro digital, sob intensa luminosidade.

## **Análise Estatística**

Com os dados da atividade antimicrobiana em mãos, os mesmos foram submetidos à análise estatística, empregando-se o teste Kruskal-Wallis para comparação global e o teste de Miller para as comparações individuais com nível de significância de 5%.

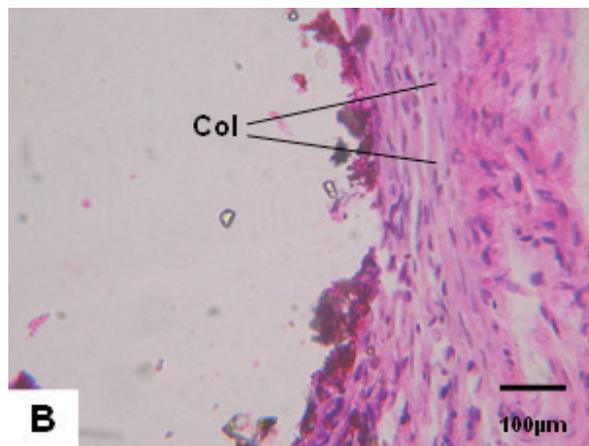
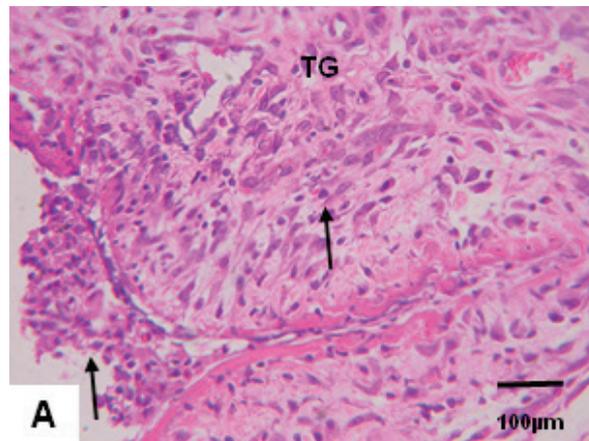
VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

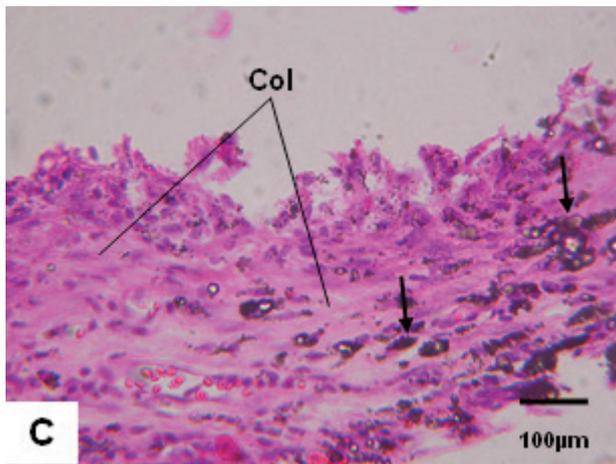
VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.

## RESULTADOS

A análise microscópica de todos os espécimes foi realizada considerando-se o tecido presente na embocadura do tubo de polietileno, em contato com o material a ser testado.

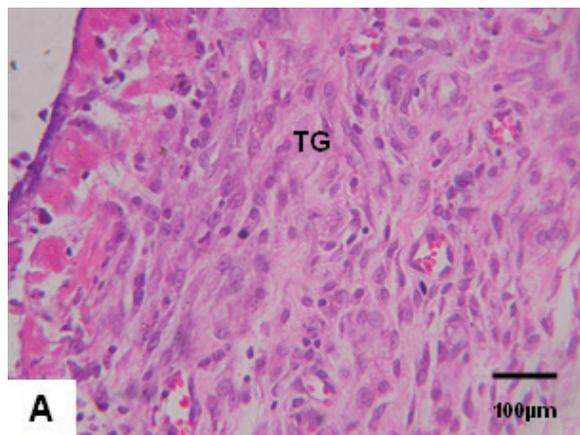
**Grupo 1** – Aos 7 dias observou-se material granular birrefringente em meio a tecido de granulação infiltrado por leucócitos mononucleares, com discreta deposição de matriz colágena. Eventualmente, visualizou-se material degenerado em contato com o material. Aos 14 dias, discretas fibras colágenas estavam organizadamente depositadas, permeadas por discreto a moderado infiltrado inflamatório mononuclear. Aos 30 dias, observou-se persistência do infiltrado inflamatório mononuclear, com padrão microscópico semelhante ao período de 14 dias (Figura 1 a, b, c).



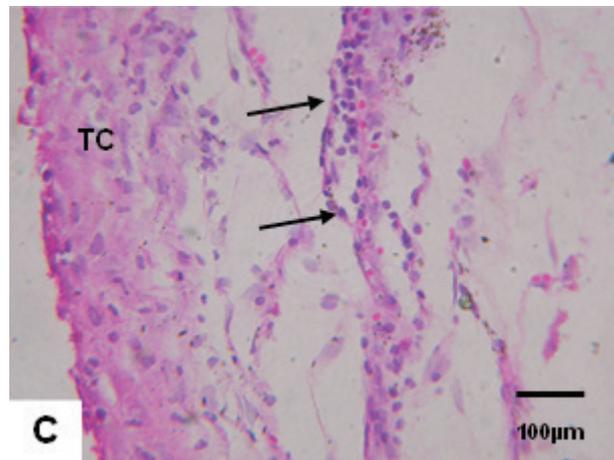
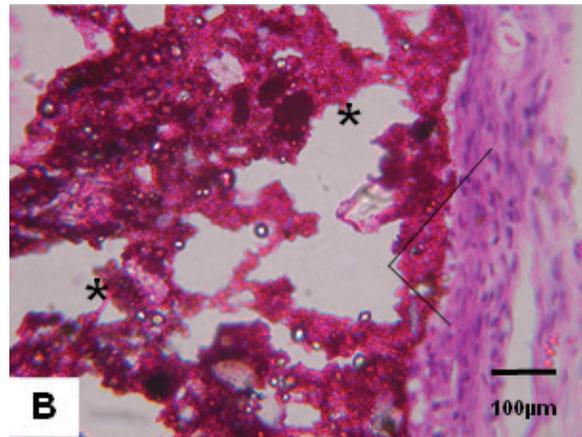


**Figura 1 (Grupo 1)** – A) 7 dias - Tecido de granulação (TG) com moderado infiltrado inflamatório (setas) próximo à superfície do material; B) 14 dias – Deposição de fibras colágenas paralelas entre si (Col); C) 30 dias – Deposição de fibras colágenas (Col) em meio a grânulos do material (setas).

**Grupo 2** – No período de 7 dias visualizou-se material granular birrefringente circular, em meio a tecido de granulação ricamente celularizado e infiltrado por moderado infiltrado inflamatório mononuclear. Após 14 dias já se notou deposição organizada das fibras colágenas em meio a discreto infiltrado mononuclear. No período de 30 dias, já se observou a presença de tecido conjuntivo fibroso permeado por eventuais leucócitos mononucleares (Figura 2 a, b, c).

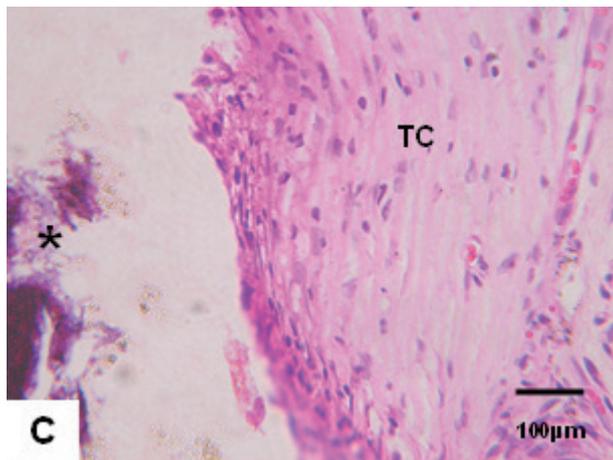
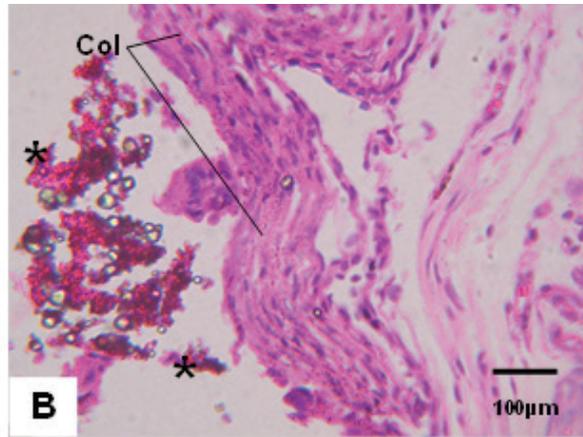
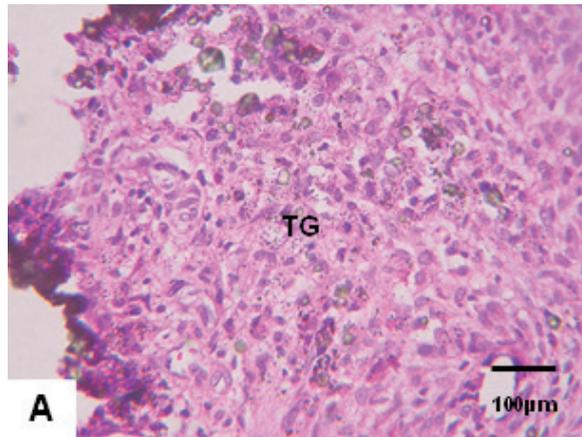


VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.



**Figura 2 (Grupo 2)** – A) 7 dias – Tecido de granulação com moderado infiltrado mononuclear (TG); B) 14 dias - Fibras colágenas organizadas (Col) próximas à superfície do material (\*); C) 30 dias - Tecido conjuntivo fibroso (TC) em meio a focos de discreto infiltrado mononuclear (setas).

**Grupo 3** – Aos 7 dias notou-se tecido de granulação ricamente celularizado permeado por moderado infiltrado mononuclear. Após 14 dias, o tecido apresentou-se em organização, com deposição organizada das fibras colágenas. Aos 30 dias, notou-se presença de tecido conjuntivo fibroso e eventuais células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (Figura 3 a, b, c).



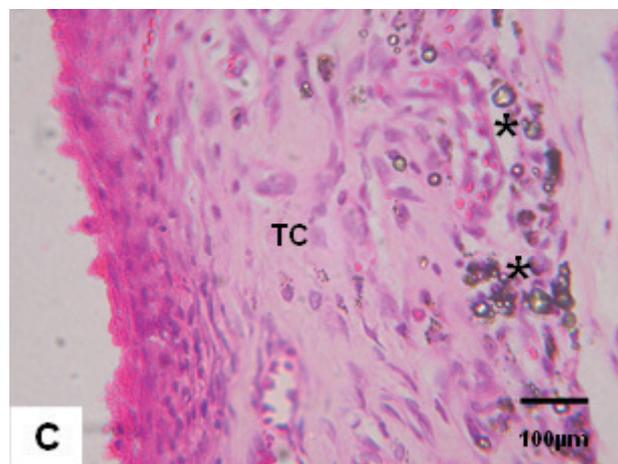
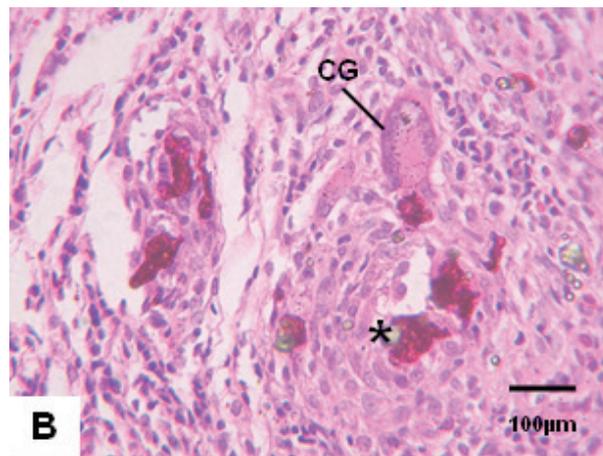
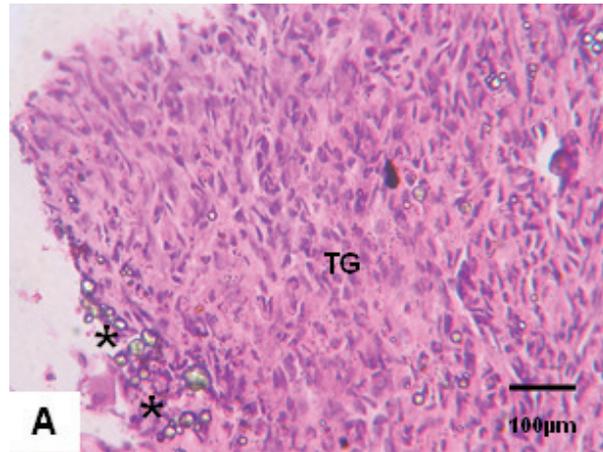
**Figura 3 (Grupo 3)** – A) 7 dias - Tecido de granulação permeado por moderado infiltrado mononuclear (TG); B) 14 dias – Deposição organizada das fibras colágenas (Col); C) 30 dias – Tecido conjuntivo organizado (TC). Material (\*)

**Grupo 4** – Após 7 dias observou-se a presença de tecido de granulação ricamente vascularizado. Assim como os demais grupos, aos 14 dias a deposição organizada de fibras colágenas foi visua-

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.

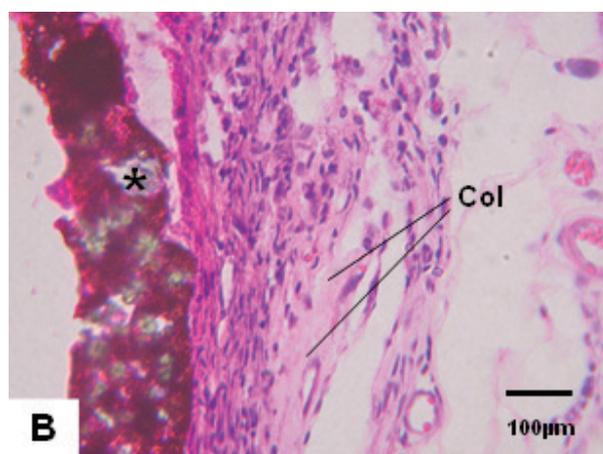
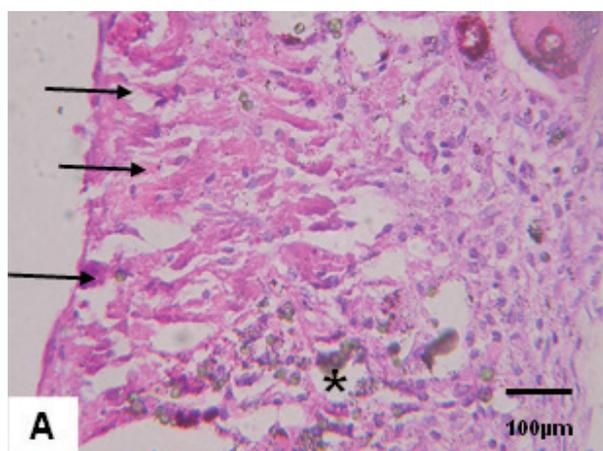
lizada, em meio a discreto infiltrado mononuclear. No período de 30 dias, células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho foram visualizadas em meio a tecido conjuntivo fibroso (Figura 4 a, b, c).



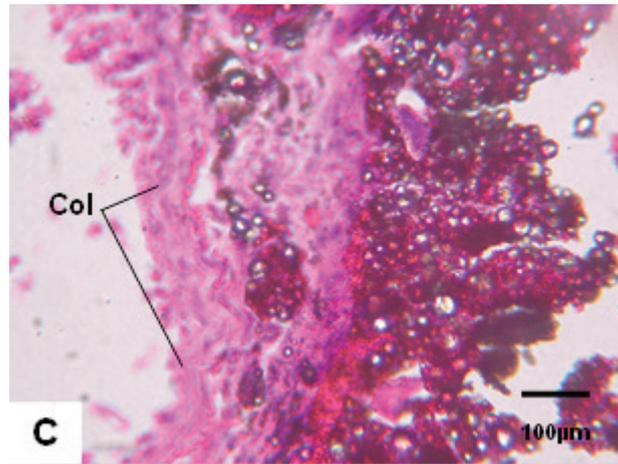
**Figura 4 (Grupo 4)** – A) 7 dias – Tecido de granulação (TG) próximo ao material (\*); B) 14 dias – Presença de eventuais células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (CG); C) 30 dias - Tecido conjuntivo (TC) em organização em meio ao material (\*)

**Grupo 5** – No período de 7 dias, focos de degeneração tecidual foram observados em meio aos grânulos do material e tecido de granulação moderadamente infiltrado por leucócitos mononucleares. Aos 14 dias, houve deposição organizada de fibras colágenas em meio a moderado infiltrado inflamatório mononuclear, com persistência de eventuais áreas de degeneração tecidual próximo ao material. Após 30 dias, organização do tecido conjuntivo fibroso foi observada, permeado por discreto infiltrado mononuclear (Figura 5 a, b, c).

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

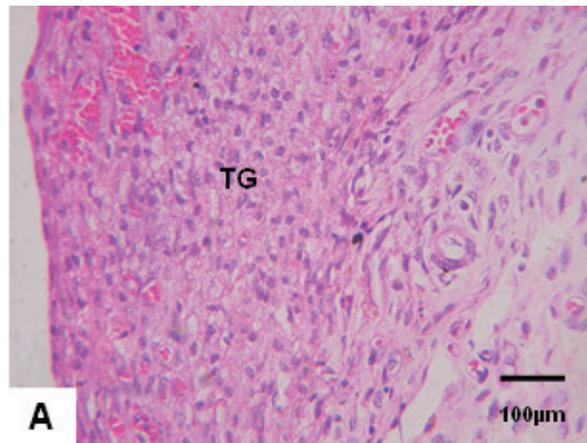


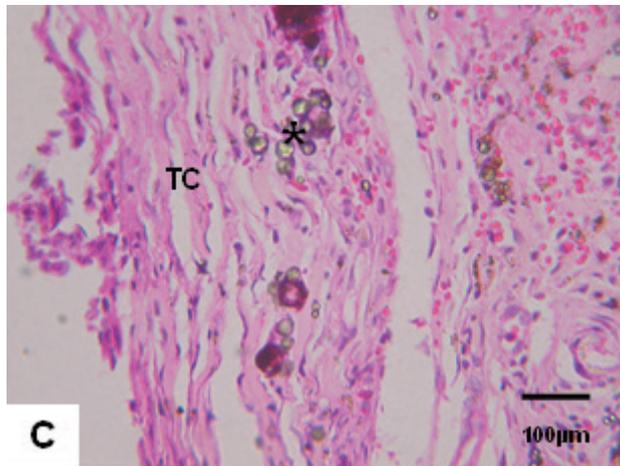
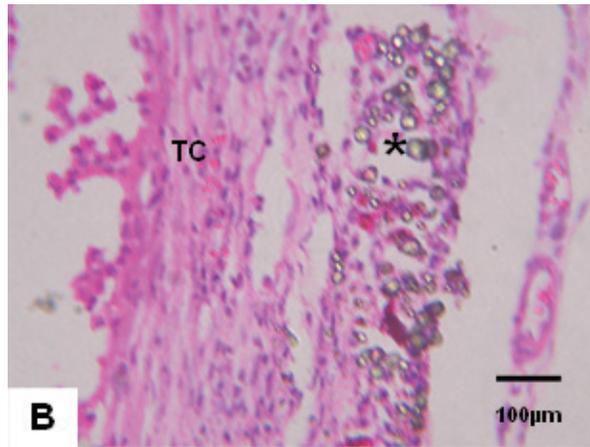
VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.



**Figura 5 (Grupo 5)** – A) 7 dias – Áreas de degeneração celular (setas) próximo à superfície do material (\*); B) 14 dias – Deposição de fibras colágenas (Col) em meio ao infiltrado mononuclear (setas); C) 30 dias – Organização das fibras colágenas (Col) em meio ao material (\*)

**Grupo 6** – Aos sete dias notou-se presença de tecido de granulação permeado por moderado infiltrado leucocitário mononuclear. No período de 14 dias também se observou organização do tecido de granulação, bem como eventuais células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho. Aos 30 dias, mesmo em meio à presença do material, houve a organização do tecido conjuntivo fibroso (Figura 6 a, b, c).



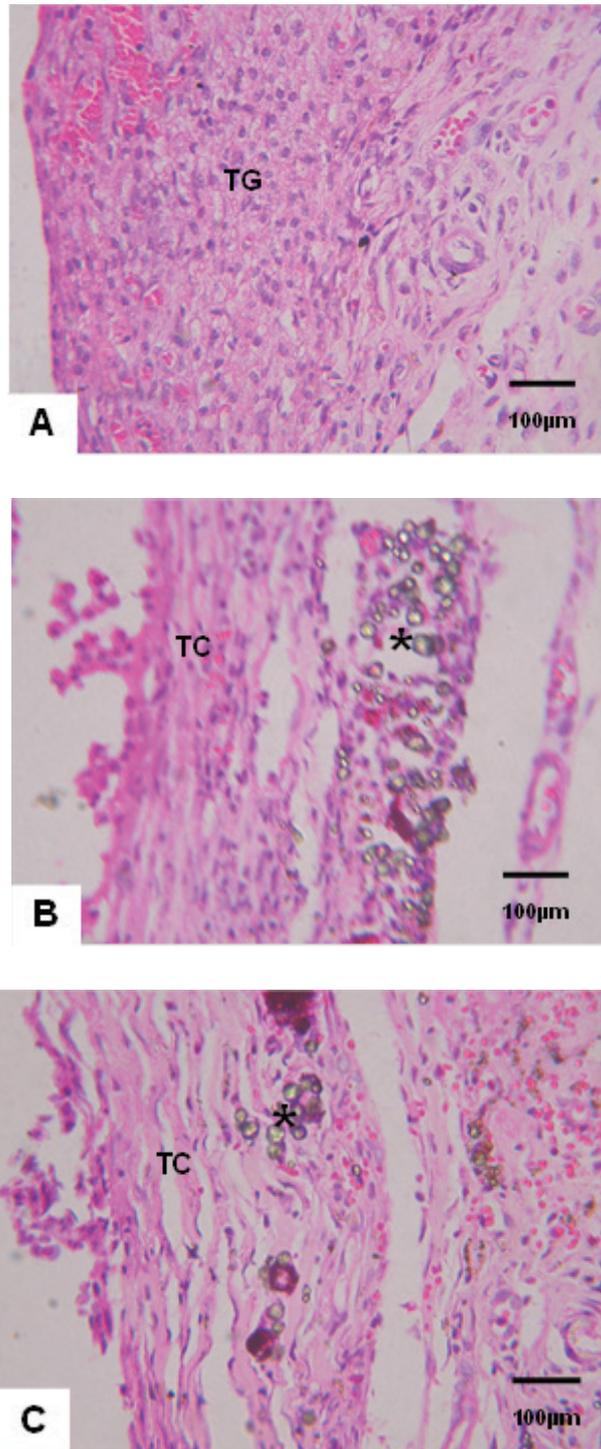


**Figura 6 (grupo 6)** – A) 7 dias - Tecido de granulação moderadamente infiltrado por leucócitos mononucleares (TG); B) 14 dias - Tecido conjuntivo em organização (TC) próximo ao material (\*); C) 30 dias – Tecido conjuntivo fibroso (TC) em meio ao material (\*).

**Grupo 7** - Aos sete dias notou-se presença de tecido de granulação permeado por moderado infiltrado leucocitário mononuclear. No período de 14 dias também se observou organização do tecido de granulação, bem como eventuais células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho. Aos 30 dias, mesmo em meio à presença do material, houve a organização do tecido conjuntivo fibroso (Figura 7 a, b, c).

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.



**Figura 7 (Grupo 7)** – A) 7 dias - Tecido de granulação moderadamente infiltrado por leucócitos mononucleares (TG); B) 14 dias - Tecido conjuntivo em organização (TC) próximo ao material (\*); C) 30 dias – Tecido conjuntivo fibroso (TC) em meio ao material (\*).

Com relação a atividade antimicrobiana, as tabelas 3 e 4 mostram a relação da atividade antimicrobiana com relação ao tempo decorrido de incubação.

Tabela 3 - Atividade antimicrobiana em 24 horas

Cepas	Grupo1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
1	0	0	0	5 mm	7mm	0	0
2	0	0	0	7mm	8mm	0	0
3	0	0	0	7mm	7mm	9mm	0
4	0	0	0	7mm	7mm	10mm	0
5	0	0	0	0	6mm	9mm	0
6	0	0	0	7mm	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	6mm	10mm	0
9	0	0	0	7mm	6mm	10mm	0
10	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	6mm	6mm	7mm	0
12	0	0	0	7mm	7mm	10mm	0
13	0	0	0	7mm	7mm	11mm	0
14	0	0	0	7mm	8mm	0	
15	0	0	0	0	6mm	8mm	0
16	0	0	0	7mm	7mm	10mm	0
17	0	0	0	0	7mm	9mm	0
18	0	0	0	7mm	7mm	0	0
19	0	0	0	7mm	7mm	8mm	0
20	0	0	0	0	7mm	10mm	0
21	0	0	0	7mm	7mm	11mm	0
22	0	0	0	6mm	8mm	11mm	0
23	0	0	0	6mm	6mm	9mm	0
24	0	0	0	7mm	7mm	10mm	0
25	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	7mm	7mm	10mm	0
27	0	0	0	0	0	7mm	0
28	0	0	0	6mm	6mm	10mm	0
29	0	0	0	7mm	8mm	11mm	0
30	0	0	0	7mm	7mm	0	0
ATCC	0	0	6mm	7mm	8mm	11mm	0

Tabela 4 - Atividade antimicrobiana em 48 horas

Cepas	Grupo1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
1	0	0	0	0	6mm	0	0
2	0	0	0	6mm	7mm	0	0
3	0	0	0	6mm	7mm	8mm	0
4	0	0	0	6mm	6mm	9,5mm	0
5	0	0	0	6mm	7mm	9mm	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	7mm	6mm	9mm	0
9	0	0	0	0	6mm	9mm	0
10	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	6mm	7mm	0
12	0	0	0	0	6mm	10mm	0
13	0	0	0	7mm	7mm	10,5mm	0

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo  
 Ricci *et al.* Avaliação  
 das atividades  
 antimicrobiana e  
 biológica do cimento  
 Portland associado ao  
 AH Plus em diferentes  
 proporções. *SALUSVITA*,  
 Bauru, v. 33, n. 3,  
 p. 309-330, 2014.

14	0	0	0	7mm	7,5mm	0	0
15	0	0	0	0	6mm	8mm	0
16	0	0	0	6mm	6mm	9mm	0
17	0	0	0	0	6mm	9mm	0
18	0	0	0	6mm	7mm	0	0
19	0	0	0	6mm	6mm	8mm	0
20	0	0	0	0	6mm	9mm	0
21	0	0	0	7mm	7mm	11mm	0
22	0	0	0	0	7,5mm	11mm	0
23	0	0	0	0	6mm	8mm	0
24	0	0	0	6mm	7mm	10mm	0
25	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	7mm	7mm	10mm	0
27	0	0	0	0	0	6mm	0
28	0	0	0	7mm	6mm	10mm	0
29	0	0	0	7mm	8mm	10mm	0
30	0	0	0	7mm	7mm	0	0
ATCC	0	0	0	6mm	7mm	11mm	0

## DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e resposta frente à implantação em tecido subcutâneo de ratos da associação do cimento Portland ao AH Plus em diferentes proporções.

Os testes de biocompatibilidade podem ser realizados em diversos modelos, como cães, camundongos, cobaias, hamsters e os ratos de laboratório (GOMES-FILHO *et al.*, 2013). Segundo Hedrich (2000), os ratos são os animais experimentais mais comumente utilizados, pois é o modelo que melhor representa o funcionamento do sistema mamífero. Serve como modelo para o teste de um grande número de materiais para aplicação em Endodontia (TORNECK, 1966; PHILLIPS, 1967; TORNECK, 1967). Para o presente estudo foram selecionados ratos machos devido às variações no ciclo hormonal das fêmeas, o que poderia interferir nos resultados. Os animais tiveram a mesma origem, Biotério da Universidade Sagrado Coração, USC, e foram padronizados quanto à saúde, idade e peso corporal.

Para a implantação de cimentos no tecido subcutâneo, é necessária a utilização de acondicionadores, veículos especiais que permitam um controle de sua forma e tamanho, de acordo com Torneck (1966). Os implantes dos materiais endodônticos em tecidos podem ser realizados em tubos de polietileno (CINTRA, *et al.*, 2006), de teflon (ECONOMIDES, *et al.*, 1995), em tubos de silicone rígidos (ZMENER; GUGLIELMOTTI; CABRINI, 1990), em tubos de dentina (SOUZA, *et al.*, 1977; HOLLAND, *et al.*, 1999), e recentemente, tem sido utilizada cápsulas de colágeno para determinados materiais

(OLIVEIRA, *et al.*, 1999). No presente estudo foi realizada a implantação em tubos de polietileno.

A ADA (1982) sugere períodos experimentais que podem variar entre 7-10, 21-35 e 60-80 dias. Observamos que na literatura não existe um consenso entre os autores quanto aos tempos de avaliação. Torneck (1966) e Phillips (1967) utilizaram um período de 60 dias, Holland *et al.* (1999) optaram por períodos de 7 e 30 dias, enquanto outros empregaram períodos que variam de 7 a 180 dias (ECONOMIDES, *et al.*, 1995; KOLOKOURIS, *et al.*, 1996; KOLOKOURIS, *et al.*, 1998).

Com relação aos resultados, todos os grupos apresentaram resultados aceitáveis. Observou-se nos períodos iniciais e presença de moderado infiltrado inflamatório mononuclear. Nos períodos intermediários e finais, observou-se tecido de tecido conjuntivo fibroso em organização, em todos os grupos experimentais.

Holland *et al.* (1999) verificaram similaridade entre o hidróxido de cálcio e MTA. Ambos induziram a formação de granulações de calcita e uma ponte de tecido mineralizado subjacente. Sugeriram que o mecanismo de ação de ambos os materiais são semelhantes. O óxido de cálcio do pó do MTA, ao se misturar com a água no processo de manipulação, seria convertido em hidróxido de cálcio. Esse último, em contato com os fluídos tissulares, se dissocia em íons cálcio e hidroxila. Os íons cálcio reagindo com o gás carbônico dos tecidos, dará origem as granulações de calcita. Junto a essas granulações, há acúmulo de fibronectina (SEUX *et al.*, 1991), a qual permite adesão e diferenciação celular. Na sequência, tem-se a formação do tecido mineralizado. PETRUCCI (1981) ressaltou que de 13 a 17% de cimento Portland são solúveis em forma de hidróxido de cálcio.

O cimento AH Plus apresenta boas propriedades biológicas. Oliveira *et al.* (2010) avaliaram a resposta biológica do cimento AH Plus associado a 5% de hidróxido de cálcio em subcutâneo de ratos. O período de análise foi de 14 dias. Concluíram que a adição de 5% de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus, melhorou o seu comportamento, produzindo reação inflamatória menos severa, quando implantados em subcutâneo de ratos. O cimento associado ao AH Plus no presente estudo foi o AH Plus, o qual apresenta boa resposta tecidual, o que pode justificar os resultados da presente pesquisa. Outros trabalhos relatam a boa resposta tecidual do cimento AH Plus.

O método de avaliação da atividade antimicrobiana será o de difusão radial em ágar. Este recurso é utilizado na literatura, como um dos testes iniciais para verificar a atividade antimicrobiana dos materiais sobre determinados microorganismos (Miyagak *et al.*, 2006; Estrela *et al.*, 2000). Os micro-organismos *E. Faecalis* são frequen-

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

temente relacionados a fracassos endodônticos e utilizados como parâmetro para comparação de materiais (Miyagak *et al.*, 2006; Estrela *et al.*, 2000).

Estrela *et al.* (2000) não observaram zonas de inibição de crescimento microbiano quando utilizado o cimento Portland cinza. Desta forma, apesar de outros estudos terem sido realizados sobre a atividade antifúngica do Portland cement (MIYAGAK *et al.*, 2006; ESTRELA *et al.*, 2000), o presente trabalho avaliará o Portland associado ao cimento AH Plus, o que poderá potencializar a atividade antimicrobiana.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a associação do AH Plus em diferentes proporções na ação antimicrobiana do cimento Portland.

Quanto à análise antimicrobiana no presente trabalho, utilizou-se o método de difusão radial, que é um método amplamente utilizado, embora tenha a limitação de oferecer apenas se a substância testada inibe ou não o crescimento microbiano, sem determinar atividade bactericida ou bacteriostática. No entanto é uma metodologia que favorece informações para verificar se deve-se realizar estudos de concentração inibitória ou bactericida mínimas para se verificar este feito. Outra limitação desta metodologia é o fato das substâncias testadas apresentarem diferentes graus de solubilização, influenciando na atividade antimicrobiana. No entanto, uma forma de diminuir este problema é realizar a pré-incubação das placas, ou seja, deixar uma hora em temperatura ambiente com o ágar para baixo para solubilização do material.

No presente trabalho, por utilizar microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos, optou-se por essa metodologia. Outro fator que se optou por essa metodologia é sua facilidade de realização e ser uma metodologia amplamente citada na literatura (CANALDA C. *et al.*, 1989; PUMAROLA M. *et al.*, 1991; PUMAROLA M. *et al.*, 1992).

Os resultados da presente pesquisa apresentaram atividade antimicrobiana para as associações de 80/20, 90/10 e AH Plus puro (controle). Isso se deve provavelmente pela maior proporção de AH Plus na associação, já que o mesmo apresenta atividade antimicrobiana. Outro fator que pode interferir e a associação com o cimento Portland, que pode não liberar substâncias que tem atividade antimicrobiana.

Com relação à atividade antimicrobiana, o cimento Portland, não apresentando ação frente às bactérias testadas pelo método de difusão radial. Estes achados do cimento Portland puro corroboram com os achados de outros autores (AL-NAZHAN e AL-JUDAI, 2003) que observaram ação antifúngica por parte do MTA, que consiste em um

material em que o principal componente é o cimento Portland. Já Estrela *et al.*, discordando do presente trabalho, não observaram inibição do cimento Portland e MTA frente a *Candida albicans*, deve ser ressaltado que no trabalho citado foi empregado o cimento Portland cinza e no presente trabalho foi empregado o branco, que apresenta diferença de alguns componentes, como a quantidade de óxido de ferro e aluminato, que pode interferir na ação. Resultados semelhantes frente ao *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* foram observados em outro estudo analisando o MTA (TORABINEJAD *et al.*, 1995) e MTA e cimento Portland (ESTRELA *et al.*, 2000).

Há necessidade de outras pesquisas para determinar a proporção ideal da associação do AH Plus ao cimento Portland.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a associação do AH Plus ao cimento Portland apresenta boa resposta tecidual e atividade antimicrobiana, principalmente nos grupos com maior quantidade de cimento AH Plus.

## REFERÊNCIAS

AL-NAZHAN e AL-JUDAI, 2003. Evaluation of Antifungal Activity of Mineral Trioxide Aggregate. **J Endod**, Chicago, v. 29, n. 12, p. 826-827, Dec. 2003.

CANALDA, C.; PUMAROLA, J. Bacterial growth inhibition produced by root canal sealer cements with a calcium hydroxide base. **Oral Surg Oral Med Oral Path**, v. 68, n.1, p. 99-102, 1989.

CINTRA LT, et al. Evaluation of subcutaneous and alveolar implantation surgical sites in the study of the biological properties of root-end filling endodontic materials. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 18, n. 1, p. 75-82, Jan-Fev 2010.

ECONOMIDES, N. et al. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. **J Endod**, Chicago, v.21, n.3, p.122-7, Mar. 1995.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, sealapex and dycal. **Braz Dent J**, v.11, p.19-27, 2000.

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. **SALUSVITA**, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.

VIVAN, Rodrigo  
Ricci *et al.* Avaliação  
das atividades  
antimicrobiana e  
biológica do cimento  
Portland associado ao  
AH Plus em diferentes  
proporções. *SALUSVITA*,  
Bauru, v. 33, n. 3,  
p. 309-330, 2014.

GOMES-FILHO *et al.* Effect of MTA-based sealer on the healing of periapical lesions. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v.21, n.3, p.235-42. 2013.

GOMES-FILHO, J. E. *et al.* Mineral trioxide aggregate but not light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. **J Endod**, Chicago, v. 34, n. 1, p. 62-65, Jan 2008.

HEDRICH, H. J. History, strains and models. In: KRINKE, G.L. **The Laboratory rat**. London, Academic Press, 2000. Cap. 1, p.3-16.

HOLLAND, R. *et al.* Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J Endod**, Chicago, v. 25, n. 3, p. 161-166, Mar. 1999.

KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.

MIYAGAK, D. C. *et al.* In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. **Braz Oral Res**. São Paulo, v. 20, p. 303-6, 2006.

OLIVEIRA, R. L. *et al.* Influence of calcium hydroxide addition to AH Plus sealer on its biocompatibility. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, Saint Louis, v. 109, n. 1, p. 50-4, Jan. 2010.

PETRUCCI, E. G. R. **Concreto de cimento Portland**. 13. ed. São Paulo: Globo, São Paulo, 1998.

PUMAROLA, M. *et al.* Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. **J Comp Path**, v. 105, n.3, p. 279-86, 1991.

PUMAROLA, J. *et al.* Antimicrobial activity of seven root canal sealers. Results of agar diffusion and agar dilution tests. **Oral Surg Oral Med Oral Path**, v. 74, p.216-20, 1992.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA Jr J. F.; SANTOS, K. R. N. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J. Endod**. Chicago, v. 30, n. 5, p. 315-320, 2004.

RUD, J.; ANDREASSEN, J. O.; JENSEN, J. E. A follow-up study of 1000 cases treated by endodontic surgery. **Int J Oral Surg**, Copenhagen, v. 4, n. 1, p. 215-228, Feb. 1972.

SEUX, D. *et al.* Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. **Arch Oral Biol**. v. 36, n. 2, p. 117-128, Jan./June 1991.

SOUSA, C. J. *et al.* Comparison of the intraosseous biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany root canal sealers. **J Endod**, Chicago, v. 32, n. 7, p. 656-62, Jul. 2006.

TORABINEJAD, M. et al. Physical and chemical properties of a new root-end-filling material. **J Endod**, Chicago, v. 21, n. 7, p. 349-353, July 1995.

TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v.21, n.3, p.379-87, Mar. 1966.

TORNECK, C. D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants I. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, St. Louis, v.24, n.5, p.674-83, Nov. 1967.

ZMENER, O.; GUGLIELMOTTI, M. B.; CABRINI, R. L. Tissue response to an experimental calcium hydroxide-based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of the rat. **Endod Dent Traumatol**, v.6, n.2, p.66-72, Apr. 1990.

VIVAN, Rodrigo Ricci *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana e biológica do cimento Portland associado ao AH Plus em diferentes proporções. **SALUSVITA**, Bauru, v. 33, n. 3, p. 309-330, 2014.