

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PROREITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DOS MATERIAIS OBTURADORES  
UTILIZADOS PARA OBTURAÇÃO DE DENTES DECÍDUOS**

*Bolsista: Carla Priscila Martins Valim, CNPq*

**MANAUS (AM)**

**2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PROREITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**RELATÓRIO FINAL**

**PIB-S/ 0047/2013**

**AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA DOS MATERIAIS OBTURADORES  
UTILIZADOS PARA OBTURAÇÃO DE DENTES DECÍDUOS**

*Bolsista: Carla Priscila Martins Valim, CNPq*

**Orientadora: Prof. Dra. Janaína Silva Martins Humberto**

**Colaborador(a): Marcela Amorim e Silva**

**MANAUS (AM)**

**2014**

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa Dentística UA da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas.

**Avaliação Antibacteriana dos Materiais Obturadores Utilizados Para Obturação de Dentes Decíduos**

Carla Priscila Martins Valim

## RESUMO

O tratamento endodôntico de dentes decíduos é de suma importância para que se possa preservar a dentição primária. Há diversos tipos de pastas obturadoras de canais radiculares de dentes decíduos no mercado, mas ainda não existe um consenso de qual material deva ser utilizado. O objetivo deste estudo foi avaliar por meio do teste de difusão em Ágar, a ação antibacteriana de cinco materiais obturadores utilizados em dentes decíduos, as pastas Calen®, Calen® Modificada com óxido de zinco, Hydropast®, Guedes Pinto e Guedes Pinto Modificada, frente a cinco cepas microbianas: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7030), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Foi considerada como CIM a menor concentração da substância capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano, apresentando halo de inibição acima ou igual a 12 mm. Os resultados foram submetidos à análise de variância de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5%. A pasta Guedes Pinto demonstrou favorável potencial antimicrobiano contra todos os microrganismos testados. A Hydropast obteve resultados semelhantes à pasta Guedes Pinto, principalmente frente ao *Enterococcus faecalis*. A pasta Calen possuiu o segundo melhor potencial antimicrobiano contra o *Lactobacillus casei* e o *Streptococcus salivarius*, porém baixa atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*. As pastas Calen Modificada e a Guedes Pinto Modificada apresentaram baixa atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados.

**Palavras-Chave:** Endodontia, Dente decíduo, Medicação intracanal, Ação antibacteriana.

## ABSTRACT

Endodontic treatment of primary teeth is very important to preserve the primary dentition. There are several types of root canal obturation folders of deciduous teeth on the market, but there is still no consensus of what material should be used. The aim of this study was to evaluate by the agar diffusion method, the antibacterial action five filling materials used in primary teeth, the Calen<sup>®</sup>, Calen<sup>®</sup> modified with zinc oxide, Hydropast<sup>®</sup>, Pinto Guedes and Pinto Guedes Modified folders, five microbial strains against *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7030), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) and *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). It was considered MIC the lowest concentration of substance able to completely inhibit bacterial growth, with inhibition zone above or equal to 12 mm. The results were subjected to analysis of variance Kruskal-Wallis complemented by the multiple comparisons at a significance level of 5% test. Pinto Guedes folder showed favorable antimicrobial activity against all tested microorganisms, but Rifocort is no longer on the market. The Hydropast obtained similar to Pinto Guedes, especially against *Enterococcus faecalis* folder results. The Calen owned the second best antimicrobial activity against *Lactobacillus casei* and *Streptococcus salivarius*, but low antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*. The Calen Modified and Modified Pinto Guedes folders showed low antimicrobial activity against all tested microorganisms.

**Key words:** Endodontics, deciduous tooth, intracanal medication, antibacterial action, root canal filling material.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	6
2 OBJETIVOS .....	7
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	8
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
4.1 Pastas utilizadas .....	12
4.2 Preparação das pastas .....	12
4.3 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos materiais obturadores utilizados para obturação de dentes decíduos.....	13
4.3.1 Microrganismos testes e preparação de inóculos.....	13
4.3.2 Pastas testadas.....	13
4.3.2.1 Pasta Calen.....	13
4.3.2.2 Pasta Calen Modificada.....	14
4.3.2.3 Hydropast.....	14
4.3.2.4 Pasta Guedes Pinto .....	14
4.3.2.5 Guedes Pinto Modificada.....	14
4.3.3 Determinação da atividade antimicrobiana dos materiais obturadores utilizados para obturação de dentes decíduos.....	14
4.3.3.1 Em meio sólido.....	14
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
6 RESULTADOS.....	17
7 DISCUSSÃO.....	22
7 CONCLUSÕES.....	25
REFERÊNCIAS .....	26

## 1. INTRODUÇÃO

A manutenção dos dentes decíduos até sua época de esfoliação natural é de fundamental importância para a correta implantação da dentição permanente. Embora os conhecimentos atuais da etiopatogenia da cárie dentária e da crescente adoção de medidas preventivas para a promoção da saúde bucal tenham promovido o declínio dos padrões da doença, em muitas crianças ainda é observada a presença de dentes decíduos com cavidades extensas e com envolvimento pulpar (SILVA et al.,2006).

O comprometimento do órgão pulpar devido traumatismos dento-alveolares também é altamente prevalente. Quando essas situações levam ao comprometimento irreversível da polpa dental, faz se necessário o tratamento endodôntico para manter a integridade e saúde dos tecidos orais e possibilitar a preservação dos dentes decíduos, até sua época de esfoliação. (AZEVEDO, BARCELOS & PRIMO et al.,2009).

Os dentes decíduos possuem uma conformação peculiar e topografia dos canais radiculares com curvaturas acentuadas. Existe também uma grande quantidade de canais secundários e acessórios, ramificações colaterais e bifurcações ou ramificações apicais em grande número, o que dificulta o acesso e a instrumentação desses dentes, favorecendo a sobrevivência de alguns microorganismos, mesmo quando o preparo biomecânico é cuidadosamente executado. Além do aspecto anatômico, o processo de rizólise em dentes decíduos ocorre de maneira irregular e nem sempre é detectado radiograficamente (PIVA et al., 2009).

Há diversos tipos de pastas obturadoras de canais radiculares no mercado. Para uma pasta obturadora ser considerada eficiente são necessárias algumas propriedades como sua reabsorção ser semelhante à raiz do dente, ser inserida com facilidade e aderir às paredes dos condutos radiculares, ser facilmente removida, ser antisséptica entre outras, entretanto, ainda

não foi desenvolvida uma única pasta capaz de preencher todos os requisitos necessários, sendo importante a realização de estudos para a avaliação das propriedades antimicrobianas destes materiais (CUNHA, BARCELOS & PRIMO et al.,2005).

Cabe ressaltar que mesmo com o avanço de pesquisas sobre esse assunto, existem divergências de opiniões quanto à utilização dos materiais obturadores do sistema de canais radiculares dos dentes decíduos. Não há consenso na literatura odontopediátrica quanto ao medicamento intracanal mais indicado para o tratamento de dentes decíduos.

Diante do que foi mencionado, é necessário buscar um mecanismo microbiológico para avaliar a capacidade antimicrobiana dos materiais endodônticos mais comumente utilizados em odontopediatria, a fim de possibilitar ao profissional responsável pelo tratamento, o medicamento mais apropriado para sua terapêutica.

No presente estudo, será analisada a eficácia antimicrobiana de pastas obturadoras de canais de dentes decíduos, tendo em vista a importância desta característica, através da avaliação *in vitro* da capacidade antimicrobiana destas pastas utilizando o método da difusão em ágar.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar *in vitro* a ação antibacteriana de materiais obturadores de dentes decíduos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o halo de inibição das pastas Calen®, Calen® modificada com óxido de zinco, Pasta Guedes Pinto, Pasta Guedes Pinto modificada e a Hydropast®.
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima de cada material obturador frente aos microrganismos testados.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

A cárie e os traumas dentários podem ocasionar perda de dentes decíduos, e um dos objetivos da Odontopediatria é quando possível, manter estes elementos, no arco até que se complete o processo de esfoliação fisiológica. Uma das intervenções mais recomendadas para eliminar a infecção e manter o dente decíduo em um estado funcional até que haja a esfoliação é o tratamento endodôntico. Cunha, Barcelos e Primo (2005), realizaram uma revisão de literatura sobre as soluções irrigadoras e os materiais obturadores mais utilizados na terapia endodôntica de dentes decíduos com relação à remoção da Smear Layer, desinfecção e adaptação das pastas obturadoras. Concluíram que a terapia pulpar de dentes decíduos apresenta bons índices de sucesso, porém para que seja alcançada maior eficácia, deve-se buscar o somatório de adequada instrumentação, irrigação com soluções eficientes associada à correta obturação do elemento dentário, visando que o dente permaneça em condições funcionais até o momento de sua esfoliação. E que são necessárias novas pesquisas que verifiquem a penetração e adaptação dos materiais obturadores mais utilizados nos dentes decíduos, quando tratados com soluções irrigadoras que removem Smear Layer e promovam adequada desinfecção.

O tratamento endodôntico de dentes decíduos é de suma importância para que se possa preservar a dentição primária e assim promover o desenvolvimento craniofacial adequado, uma oclusão normal e qualidades estéticas. Azevedo, Barcelos & Primo (2009) realizaram uma revisão de literatura sobre a variabilidade de diferentes técnicas de tratamento endodôntico em dentes decíduos e discutiram os pontos que influenciam no êxito deste tratamento. A literatura odontológica sobre este assunto é ampla e complexa, apresentando diferentes conclusões quanto à melhor modalidade de terapia pulpar para a dentição decídua. Chegou-se a conclusão que é possível alcançar o sucesso no tratamento endodôntico desses elementos através de medicamentos utilizados no preparo e obturação do canal radicular, os

quais assumem considerável importância em obter desinfecção do canal, não só criando condições de assepsia durante o preparo do canal, mas principalmente, em manter tal condição asséptica pela obturação.

Fundamentando-se nisso, Guedes-Pinto e colaboradores propuseram uma pasta de enchimento do canal de dentes decíduos com o nome de Pasta Guedes Pinto (GP), a qual tem por componentes iodofórmio, Paramonoclorofenol canforado (PMCC) e Rifocort e é usado por mais de 90% de escolas de Odontologia no Brasil. Segundo Mello-Moura et al., (2007) o Rifocort é composto por acetato de prednisolona (corticosteróide e antiinflamatório), rifamicina sódica (antibiótico), propilenoglicol e macrogol (polietilenoglicol). O mesmo se apresenta em forma de pomada e possui mecanismo de ação antiinflamatório e antibiótico. O Paramonoclorofenol (PMC) é um agente antimicrobiano potente que se apresenta sob a forma de cristais e odor fenólico característico. Dentre os mais utilizados, o PMCC tem-se destacado por sua comprovada propriedade antibacteriana. Possui dupla ação devido às propriedades antissépticas do fenol e do íon cloro, que é liberado lentamente. No entanto, estudos demonstram que o PMC é o fármaco mais citotóxico da pasta (AZEVEDO et al., 2009).

No intuito de potencializar sua atividade antimicrobiana e reduzir sua citotoxicidade, sugere-se a associação do PMC com outras substâncias, como a cânfora e o furacin ou ainda diluído em água, além disso, propicia maior poder de penetração do medicamento na dentina e ramificações do canal radicular, fornecendo maior halo de inibição do crescimento bacteriano. Rocha e colaboradores (2010) avaliaram pelo método de difusão em ágar, a atividade antimicrobiana do PMCC por contato direto e por vapor, sobre o *Enterococcus faecalis* e o *Staphylococcus aureus*. Utilizaram-se dez dentes humanos extraídos (caninos e pré-molares superiores e inferiores). O teste por contato direto foi realizado com discos de papel filtro embebidos em 3µL de PMCC colocados diretamente sobre o meio de cultura inoculado com os microrganismos. Para o teste do vapor, o PMCC foi levado ao interior do

canal com um cone de papel absorvente #40 e a câmara pulpar foi selada com bolinha de papel absorvente e material restaurador temporário, onde permaneceu por 24 horas. Os resultados revelaram que o PMCC apresentou atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* por contato direto e constatou-se não haver nenhuma efetividade por vapor quando o fármaco esteve no canal radicular, pois houve crescimento bacteriano próximo à região do ápice radicular.

Rossato e colaboradores (2011) se propuseram a avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana da pasta Guedes Pinto original e a modificada (substituindo-se o PMCC pelo Digluconato de Clorexidina a 2%). Foram utilizadas 6 cepas-padrão de microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus oralis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. Concluiu-se que ambas as pastas apresentam eficácia antimicrobiana, sendo que a PGP apresentou-se bacteriostática contra todos os microrganismos e bactericida para *Enterococcus faecalis* e o *Bacillus subtilis*. A pasta com Clorexidina mostrou ação bacteriostática e bactericida contra todos os microrganismos, embora com menor difusão. No entanto foram recomendados novos estudos que possam avaliar a atividade antimicrobiana com a citotoxicidade de aspectos clínicos por Digluconato de Clorexidina 2% para ser usado no tratamento endodôntico de dentes decíduos.

Os estudos *in vitro* buscam simular em laboratório condições biológicas mais próximas das reais. Uma das vantagens desse método é que proporciona a análise direta de uma medicação em relação a um microrganismo específico, indicando a substância mais eficaz na sua eliminação. Este é um excelente meio para avaliação da atividade antimicrobiana de materiais e medicamentos odontológicos. Fundamentando-se nisso Piva e colaboradores (2009), avaliaram através de um estudo *in vitro*, a ação antimicrobiana de materiais obturadores de canais radiculares de dentes decíduos por meio da difusão em ágar. Os materiais testados foram: pasta Guedes-Pinto, pasta CTZ, OZE, Calen®, L&C® e MTA.

Foi utilizada uma mistura microbiana composta por: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. As pastas CTZ e Guedes-Pinto apresentaram halos de inibição estatisticamente maiores que os demais materiais, a L&C® e o MTA não apresentaram halos de inibição. Pode se concluir que as pastas Guedes-Pinto, CTZ, Calen® e o óxido de zinco e eugenol apresentaram ação antimicrobiana e o MTA e a pasta L&C® não apresentaram ação antimicrobiana.

Outro grupo de materiais utilizados para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos corresponde ao grupo dos materiais à base de hidróxido de cálcio, os quais são, há muito tempo, largamente utilizados nos tratamentos de canais radiculares. O hidróxido de cálcio apresenta-se como um pó branco, alcalino (pH 12,8), com reconhecido poder antimicrobiano. No entanto, a literatura enfatiza a resistência de alguns microrganismos à ação deste fármaco. Vários autores tentam complementar a desinfecção, principalmente, com o auxílio de pastas medicamentosas a base de hidróxido de cálcio ou iodofórmio, agentes antimicrobianos, por estar devidamente comprovado que mesmo quando a terapia endodôntica é executada de forma adequada, o fracasso pode acontecer devido à persistência de bactérias potencialmente patogênicas em sítios no interior dos canais. Por conta disso, a seleção de substâncias irrigadoras e medicamentos intrapulpares com ação antimicrobiana assumem papel relevante, no sentido de minimizar ou eliminar os nichos de colonização bacteriana e de contribuir para o sucesso clínico do tratamento (OLIVEIRA et al., 2010; PEREIRA et al., 2011).

Toledo e colaboradores (2010) revisaram a produção científica sobre os efeitos do hidróxido de cálcio e do iodofórmio associados ou não, em dentes com rizogênese incompleta. Durante o tratamento endodôntico, a substância química utilizada deve oferecer uma efetiva ação antimicrobiana e o aumento da permeabilidade do sistema de canais radiculares, porém, esta condição é dificultada em virtude das condições anatômicas, estado

de mortificação pulpar, processo inflamatório periapical e maior facilidade de contaminação do sistema de canais radiculares nestes casos. A literatura evidencia a recomendação da apicificação, sendo utilizado o hidróxido de cálcio devido a sua capacidade de estimular a formação de tecido mineralizado, além de proporcionar resultados altamente satisfatórios em dentes com mortificação pulpar e lesão periapical, mesmo demandando um tempo longo. O iodofórmio é utilizado nestes casos, pois sua ação antisséptica e estimulação de resposta imunológica pode atuar e influenciar positivamente nos casos endodônticos de dentes com rizogênese incompleta. No intuito de melhorar as propriedades físico-químicas desta substância, como a radiopacidade, sugere-se a associação com iodofórmio que, por sua vez, não interfere nas propriedades antibacterianas.

A pasta Calen, é um produto à base de hidróxido de cálcio associado a um veículo hidrossolúvel, viscoso, o polietilenoglicol, que mantém o hidróxido de cálcio por mais tempo na área desejada, prolongando sua ação, diminuindo sua solubilização e aumentando sua penetrabilidade na dentina radicular. Essa pasta apresenta pH em torno de 12,4 e sofre dissociação em íons cálcio e hidroxila. Para permitir sua utilização como material obturador de canais radiculares de dentes decíduos, a pasta Calen deve ser espessada com óxido de zinco, reduzindo sua fagocitose, a qual clinicamente deve ocorrer na mesma velocidade da reabsorção das raízes dos dentes decíduos (LEONARDO et al., 2005).

Oliveira e colaboradores (2010) avaliaram por meio do método de difusão em BHI ágar, a ação antimicrobiana de quatro formulações a base de hidróxido de cálcio utilizadas como medicação intracanal: Calen – hidróxido de cálcio; Calen® com PMCC - hidróxido de cálcio associado ao paramonoclorofenol canforado; Hydrocal® sem iodofórmio – hidróxido de cálcio e Hydrocal® com iodofórmio– hidróxido de cálcio associado ao iodofórmio. Para tanto foram utilizadas três cepas microbianas: *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. Com base na análise dos resultados, foi constatado que o Calen® com ou

sem PMCC e o Hydrocal® sem iodofórmio apresentaram ação antimicrobiana contra as três culturas empregadas sem haver diferença estatística significativa. Hydrocal® com iodofórmio não teve ação contra as culturas de *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*, somente contra *Bacillus subtilis*.

A Hydropast é um material temporário para obturação de canal radicular, criada recentemente por Guedes Pinto, que apresenta em sua composição além do Hidróxido de Cálcio, elemento importante para induzir a formação da dentina reparadora e utilizada como material intracanal em procedimentos endodônticos, tem também a presença do Iodofórmio que confere à pasta propriedade anti-infecciosa com efeito prolongado em intensa radiopacidade. Andolfatto e colaboradores (2012) avaliaram a resposta biológica do tecido subcutâneo de ratos frente aos curativos de demora à base de hidróxido de cálcio. Quarenta e oito ratos foram distribuídos em 3 grupos: Calen, UltraCal XS e Hydropast. Um tubo de polietileno com uma das pastas foi implantado por via subcutânea no dorso e logo em seguida suturado. Após 7 e 30 dias, oito animais de cada grupo por período experimental foram mortos. Os implantes foram removidos, fixados e incluídos em parafina. Em seus resultados observaram que com esta pasta houve uma reação tecidual semelhante mostrando-se biocompatível, porém ainda são necessárias pesquisas que verifiquem a propriedade antibacteriana, a fim de fornecer as bases necessárias para o estabelecimento de uma conduta cientificamente satisfatória.

## **4 Materiais e Métodos**

### **4.1 Pastas utilizadas**

1. Pasta Calen® (SS White artigos Dentários Ltda, RJ- Brasil);
2. Pasta Calen® espessada com 1,0 g de óxido de zinco em pó (SSWhite artigos Dentários Ltda- RJ-Brasil);

3. Pasta Guedes Pinto, composta por 0.30 g de iodoformio (K-Dent; Quimidrol, SC- Brasil), 0.25 g de Rifocort (Merrel Lepetit, SP- Brasil) e 0.1 mL de Paramonoclorofenol canforado PMCC (Biodinâmica- Brasil)
4. Pasta Guedes Pinto modificada, composta pelas mesmas medidas da pasta original substituindo-se a pomada Rifocort® por 0,25g da pomada OMCILON-A® "M" (BRISTOL-MYERS SQUIBB).
5. Pasta Hydropast® (Biodinâmica- Brasil) - composta por hidróxido de cálcio e iodofórmio
6. Será utilizada como controle positivo a solução Digluconato de Clorexidina a 0,12%.

#### **4.2 Preparação das Pastas**

Cada pasta foi diluída com Propilenoglicol e manipulada com espátula nº24 em placa de petri de vidro estéril e utilizada logo após sua manipulação.

#### **4.3 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos materiais obturadores utilizados para obturação de dentes decíduos.**

##### **4.3.1 Microrganismos testes e preparação de inóculos**

Os microrganismos utilizados para a determinação da CIM foram: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7030), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), o *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). As cepas bacterianas foram fornecidas pelo laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia e da Faculdade de Farmácia da UFAM.

Para obtenção do inóculo os microrganismos foram reativados em caldo nutritivo de BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO) em tubos de ensaios de 10x150mm, incubados a 37° por 24 horas, em microaerofilia (figura 1). Em condições assépticas foram retiradas alíquotas das bactérias por meio de uma alça de platina esterilizada de 5 mm de diâmetro e, inoculadas em 5 mL de caldo BHI, estéril, em tubo de ensaio. As suspensões foram turbilhonadas em agitador de tubos (Marconi, MA – 162) até se tornarem homogêneas. Os inóculos foram padronizados pela escala de McFarland (PROBAC) com turbidez compatível a 0,5, a fim de fornecer um padrão de  $10^8$  UFC/mL.



Figura 1 - Inóculo de *S. mutans* em caldo BHI.

### 4.3.2 Pastas testadas

#### 4.3.2.1 Pasta Calen

Foram utilizados 2,7g de Hidróxido de Cálcio e diluído em 0,5mL de Propilenoglicol, os quais foram manipulados em uma placa de petri de vidro com o auxílio de uma espátula n°24, a fim de obter uma solução homogênea.

#### 4.3.2.2 Pasta Calen Modificada

Foram utilizados 2,7g de Hidróxido de Cálcio acrescido de 1g de Óxido de zinco e diluídos em 0,5mL de Propilenoglicol, os quais foram manipulados em uma placa de petri de vidro com o auxílio de uma espátula n°24, a fim de obter uma solução homogênea.

#### 4.3.2.3 Hydropast

Foi utilizado 1g de Hydropast e diluído em 0,5 mL de Propilenoglicol, os quais foram manipulados em uma placa de petri de vidro com o auxílio de uma espátula n°24, a fim de obter uma solução homogênea.

#### 4.3.2.4 Pasta Guedes Pinto

Foram utilizados 0,3g de Iodofórmio e 0,25g de Rifocort e diluídos em 0,1mL de Paramonoclorofenol e 0,5 mL de Propilenoglicol, os quais foram manipulados em uma placa de petri de vidro com o auxílio de uma espátula n°24, a fim de obter uma solução homogênea.

#### 4.3.2.5 Pasta Guedes Pinto Modificada

Foram utilizados 0,3g de Iodofórmio e 0,25g de Omcilon e diluídos em 0,1mL de Paramonoclorofenol e 0,5 mL de Propilenoglicol, os quais foram manipulados em uma placa de petri de vidro com o auxílio de uma espátula n°24, a fim de obter uma solução homogênea.

#### 4.3.3 Determinação da atividade antimicrobiana dos materiais obturadores utilizados para obturação de dentes decíduos

##### 4.3.3.1 Em meio sólido

A atividade antimicrobiana foi determinada, inicialmente, segundo metodologia proposta por Bauer et al (1969) modificado, através da difusão em meio sólido em placas de Petri (figura 2). Para tanto, as linhagens foram cultivadas em caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO®), incubadas a 37°C por 24 horas.

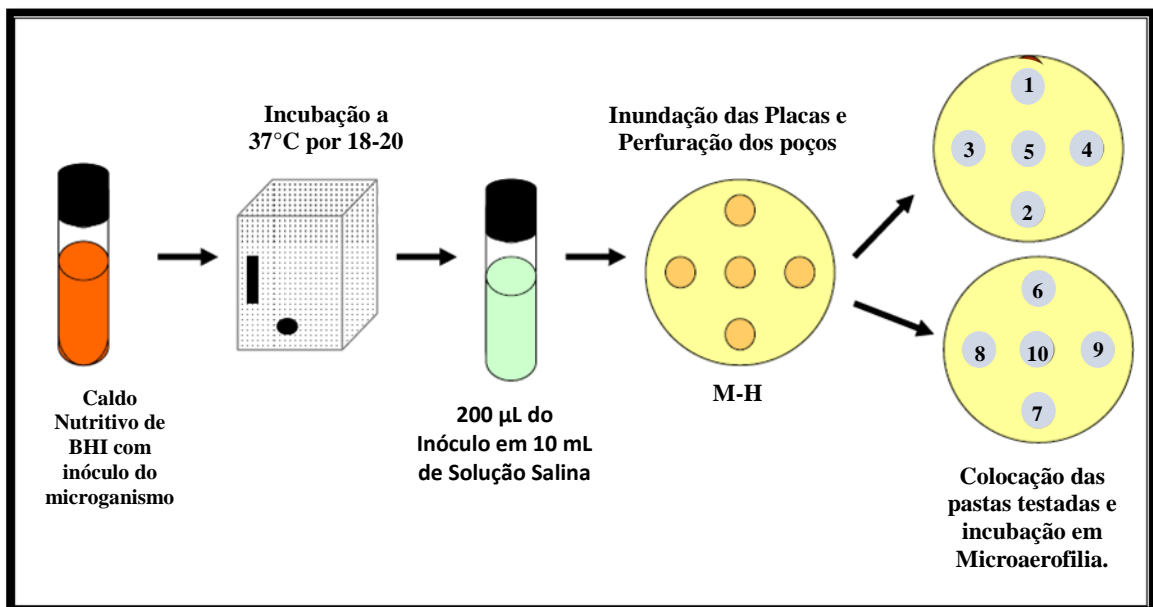


Figura 2 - Representação Esquemática da CIM.

Os meios para crescimento dos microrganismos foram preparados 24 horas antes do procedimento. Para melhor crescimento de *S. mutans*, foram preparadas placas Brain Heart Infusion (BHI – DIFCO®) suplementadas com 10% de sacarose; e placas de Agar Mueller Hinton (DIFCO®) para as demais bactérias. Após o controle de esterilidade, as placas foram

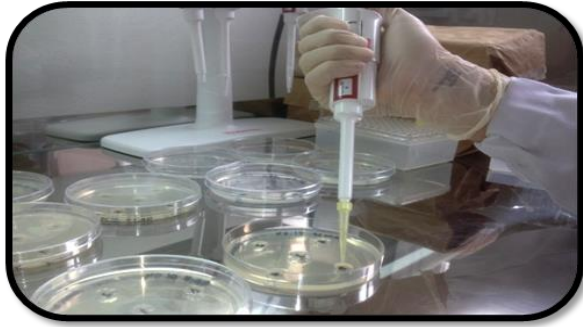
inundadas com solução salina inoculada com seus respectivos microrganismos do overnight, padronizados com a escala 0,5 de Mc Farland, em uma concentração de  $10^{-1}$  mL e no intervalo de 30 minutos de secagem em estufa, foram confeccionados orifícios padronizados de aproximadamente 6 mm de diâmetro.

Em cada placa foram confeccionados cinco orifícios que receberam numerações que variaram de 1 a 10, as quais corresponderam ao número da diluição da pasta testada (1:1 até 1:512) como representado na tabela 1, sendo a substância pura a 1,2 mg/mL.

<b>Concentração da Clorexidina 0,12% (mg/mL) – Controle Positivo</b>									
Clorexidina	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Pura (1,2)	(0,6)	(0,3)	(0,15)	(0,07)	(0,03)	(0,01)	(0,009)	(0,004)	(0,002)

**Tabela 1- Concentração da pasta Guedes Pinto em diluição logarítmica.**

Após a colocação de 50 $\mu$ L da pasta testada nos poços confeccionados (figura 3), as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, a fim de permitir o crescimento microbiano e verificar a ação da pasta por meio da formação de halos de inibição. Cada ensaio foi realizado em duplicata frente a cada linhagem selecionada. O mesmo procedimento foi utilizado para o controle positivo, o Digluconato de Clorexidina de 0,12% (Periogard®).



**Figura 3- Inundação das placas com a pasta testada.**

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi a menor concentração da substância capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano, ou seja, presença de halo maior ou igual de 12 mm.

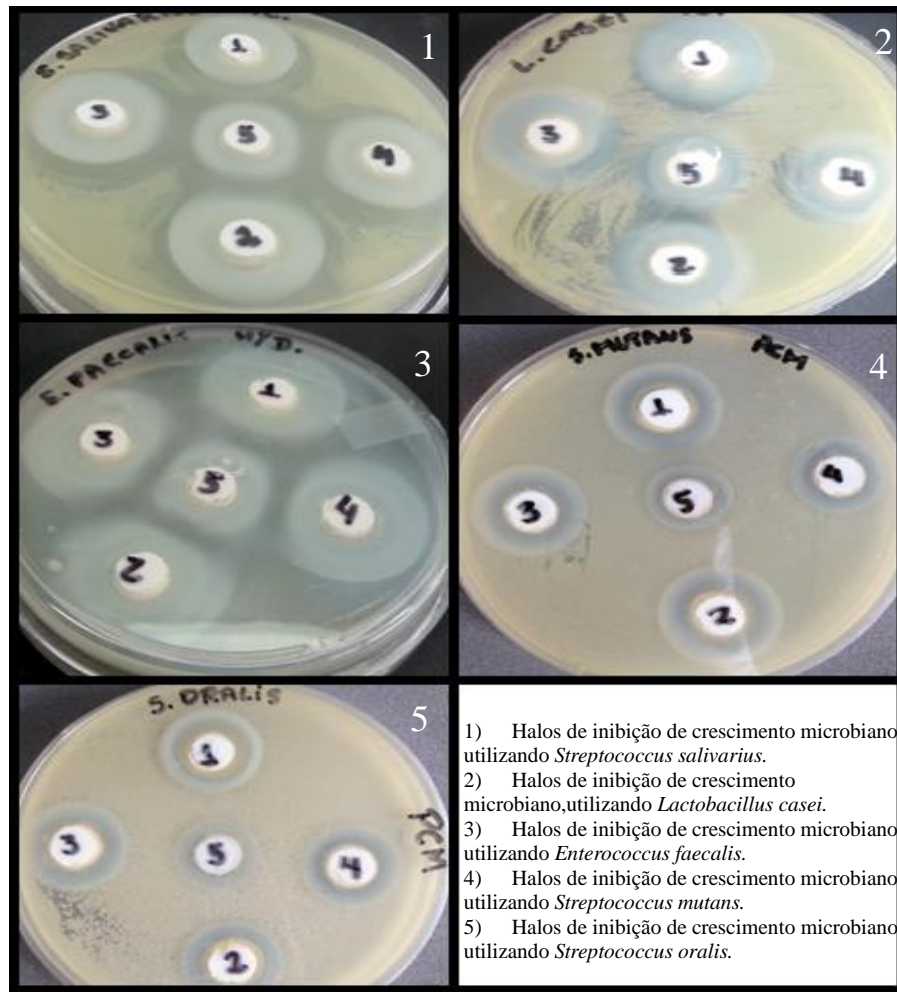
## **5 Análise Estatística**

Os resultados foram digitados em bancos de dados do programa Epi-Info versão 7.0 e foram submetidos à estatística descritiva com análise das médias e seus desvios padrões e também a análise estatística não paramétrica de Kruskal-Wallis, ao nível de significância de 5%.

## **6 RESULTADOS**

### **Atividade Antibacteriana *In Vitro* - Teste de Difusão em Ágar**

A figura 4 demonstra os halos de inibição do crescimento microbiano frente aos cinco microrganismos indicadores (*Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus salivarius*), observados com os diferentes materiais obturadores mais comumente utilizados em canais radiculares de dentes dedíduos (Pasta Calen<sup>®</sup>, Pasta Calen<sup>®</sup> espessada com Óxido de Zinco, Hydropast, Pasta Guedes Pinto, Pasta Guedes Pinto Modificada) e o material de controle Digluconato de Clorexidina 0,12%, empregando o teste de difusão e ágar.



**Figura 4 - Halos de inibição do crescimento microbiano frente aos cinco microrganismos testados**

Desta forma, as pastas obturadoras aquosas foram testadas contra os patógenos orais, pelo método de difusão em ágar. Os resultados estão apresentados nas tabelas 2, 3, 4, 5 e 6 as quais demonstram a média dos diâmetros dos halos de inibição, em milímetros, das pastas testadas frente a cada microrganismo.

MICROORGANISMOS	Pasta Calen									
	SP	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
	*(5400)	*(2700)	*(1350)	*(675)	*(337,5)	*(168,7)	*(84,3)	*(42,1)	*(21)	*(10,5)
<i>Enterococcus faecallis</i>	23,5	22,5	21,75	21,25	21**	9,25	0	0	0	0
<i>Lactobacillus casei</i>	24,75	22,75	22	19	18,75	18,5	18	17	15,5**	6
<i>Streptococcus mutans</i>	21,5	19	16,25	15,75	15	13**	11,5	11	0	0
<i>Streptococcus oralis</i>	22,5	20,75	19,5	17	16	15,5	15**	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	30,25	27	26,75	24,75	20	17	16,5	15,25	13**	11,75

**Tabela 2 - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da pasta Calen.**

SP: Substância pura \*Concentração da pasta em mg/mL (CIM) \*\*Poço com último halo de inibição válido (≥12mm)

MICROORGANISMOS	Hydropast									
	SP	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
	*(2000)	*(1000)	*(500)	*(250)	*(125)	*(62,5)	*(31,25)	*(15,6)	*(7,8)	*(3,9)
<i>Enterococcus faecallis</i>	29	26,5	25,5	23,75	21	20	19,75	17,5	14,25**	11
<i>Lactobacillus casei</i>	24,5	22,5	21,5	20	18,25	17	14	13,5**	6	5,5
<i>Streptococcus mutans</i>	21,25	19,5	16,75	14,75	13,5	12**	10,25	0	0	0
<i>Streptococcus oralis</i>	24,5	23,25	22	21	19,5	18	15,5**	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	27,5	26	25,5	23,25	19,5	18,5	17	16,75**	0	0

**Tabela 3 - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da Hydropast.**

SP: Substância pura \*Concentração da pasta em mg/mL (CIM) \*\*Poço com último halo de inibição válido (≥12mm)

MICROORGANISMOS	Pasta Guedes Pinto Modificada									
	SP	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
	*(910)	*(455)	*(227,5)	*(113,7)	*(56,8)	*(29,4)	*(14,2)	*(7,1)	*(3,5)	*(1,7)
<i>Enterococcus faecalis</i>	20	17	15	13**	11,5	5,5	0	0	0	0
<i>Lactobacillus casei</i>	23	21	20	19,75	19,5**	11,5	11,25	5,25	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	21,5	19,5	14,5	13,5	12,5	12,25**	10,5	9	0	0
<i>Streptococcus oralis</i>	20,5	19	16,5	15	12,75**	11,25	0	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	21	18,25	16	15,25	13	12**	11,75	11	10,5	0

**Tabela 4 - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da pasta Guedes Pinto Modificada**

SP: Substância pura \*Concentração da pasta em mg/mL(CIM) \*\*Poço com último halo de inibição válido ( $\geq 12$ mm)

MICROORGANISMOS	Pasta Calen Modificada									
	SP	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
	*(7400)	*(3700)	*(1850)	*(925)	*(462,5)	*(231,2)	*(115,6)	*(57,8)	*(28,9)	*(14,4)
<i>Enterococcus faecalis</i>	23,25	22,5	20,5	19,25	17,5**	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus casei</i>	21	20	19,75	18,25	17	16,5**	0	0	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	22	21,25	20,25	19	18,25	13,75**	6	0	0	0
<i>Streptococcus oralis</i>	20,5	20	19,25	18,5	17,75	16,25**	5,5	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	22	21,75	21,25	19,25	18**	11	5	0	0	0

**Tabela 5 - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da pasta Calen Modificada.**

SP: Substância pura \*Concentração da pasta em mg/mL(CIM) \*\*Poço com último halo de inibição válido ( $\geq 12$ mm)

MICROORGANISMOS	Pasta Guedes Pinto									
	SP *(910)	1:2 *(455)	1:4 *(227,5)	1:8 *(113,7)	1:16 *(56,8)	1:32 *(29,4)	1:64 *(14,2)	1:128 *(7,1)	1:256 *(3,5)	1:512 *(1,7)
<i>Enterococcus faecalis</i>	23,5	22,5	21	19,5	18,5	18	15,5	15,25	14,75**	11,5
<i>Lactobacillus casei</i>	25	24,25	21,75	19,25	18,25	17,75	16,75	15,5	15**	10
<i>Streptococcus mutans</i>	23	21,25	19,5	18,25	18	17,25	17	16,5	15,5**	11,5
<i>Streptococcus oralis</i>	20,75	20,5	18,5	16,75	16,25	16	15,75	15	12,5**	5,5
<i>Streptococcus salivarius</i>	18,75	18,5	17	16	15,75	15	12,5	12**	0	0

**Tabela 6 - Média dos diâmetros dos halos de inibição (mm) da pasta Guedes Pinto.**

**SP: Substância pura \*Concentração da pasta em mg/mL(CIM) \*\*Poço com último halo de inibição válido ( $\geq 12$ mm)**

Para uma melhor visualização dos resultados, a tabela 7 demonstra o número do poço com último halo de inibição válido, ou seja, igual ou acima de 12 mm.

MICROORGANISMOS	Clorexidina (0,12%)	Pasta Calen	Hydropast	Pasta Guedes Pinto Modificada	Pasta Calen Modificada	Pasta Guedes Pinto
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	5	9*	4	5	9*
<i>Lactobacillus casei</i>	9*	9*	7	5	6	9*
<i>Streptococcus mutans</i>	10*	6	5	6	6	9*
<i>Streptococcus oralis</i>	9*	7	6	5	6	9*
<i>Streptococcus salivarius</i>	9*	9*	7	6	5	8

**Tabela 7- \*Número do poço com o último halo de inibição válido ( $\geq 12$  mm).**

Pela não homogeneidade da amostra o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado, mas não foi encontrada nenhuma associação estatisticamente significativa.

Quando o microrganismo indicador foi o *Enterococcus faecalis*, os maiores halos de inibição foram ocasionados pelas pastas Guedes Pinto e Hydropast e o menor halo foi ocasionado pela pasta Guedes Pinto Modificada.

Com relação ao *Lactobacillus casei*, as pastas Guedes Pinto e Calen apresentaram os maiores halos de inibição e a pasta Guedes Pinto Modificada apresentou o menor halo.

Nas placas semeadas com *Streptococcus mutans*, não foi observada diferença entre as pastas Calen, Guedes Pinto Modificada e Calen Modificada, os quais ocasionaram halos de inibição respectivamente de 13; 12,25 e 13,75mm de diâmetro. A pasta Guedes Pinto ocasionou os maiores halos de inibição entre ela e as outras pastas. A Hydropast apresentou o menor halo.

Quanto ao *Streptococcus oralis*, a pasta Guedes Pinto Modificada apresentou o menor halo de inibição. A pasta Guedes Pinto continua ocasionando o maior halo de inibição com grande diferença entre as outras pastas. As pastas Calen, Hydropast e Calen Modificada apresentaram discreta diferença, os quais os halos de inibição foram respectivamente 15; 15,5 e 16,25 mm de diâmetro.

Já com relação ao *Streptococcus salivarius*, a Pasta Calen apresentou o maior halo de inibição. As pastas Hydropast, Guedes Pinto Modificada e Guedes Pinto apresentaram discreta diferença, os quais os halos de inibição foram respectivamente 16,75; 12 e 12 mm de diâmetro. A Pasta Calen Modificada apresentou o menor halo.

## 7 DISCUSSÃO

Os materiais obturadores assumem um papel fundamental para que o reparo do elemento dentário desenvolva-se de acordo com padrões biológicos normais. Portanto, torna-se fundamental a utilização de medicamentos que impossibilitem a sobrevivência de microrganismos. A escolha desses materiais é de extrema importância devido à complexidade dos canais radiculares associada ao processo de reabsorção fisiológica. Alguns critérios são necessários para que o material obturador de dentes decíduos seja considerado ideal, como ser reabsorvível quando extravasado, não provocar dano aos tecidos periapicais e ao germe do permanente, ter propriedades antimicrobianas, ser inserido com facilidade e aderir às paredes dos canais radiculares, ser removido facilmente, quando necessário, ter radiopacidade e não pigmentar o dente, entretanto, ainda não foi desenvolvida uma única pasta capaz de preencher todos os requisitos necessários, sendo importante a realização de estudos para a avaliação das propriedades antimicrobianas destes materiais (CUNHA, BARCELOS & PRIMO et al.,2005;SILVA et al.,2006; MELLO-MOURA,2007;PIVA et al., 2009; OLIVEIRA et al.,2010).

A capacidade antimicrobiana desses materiais tem papel decisivo no saneamento dos canais radiculares, tendo em vista que os dentes decíduos possuem uma conformação peculiar e topografia dos canais radiculares com curvaturas acentuadas além de uma grande quantidade de canais secundários e acessórios, ramificações colaterais e bifurcações ou ramificações apicais em grande número, o que dificulta o acesso e a instrumentação desses dentes, favorecendo a sobrevivência de alguns microrganismos, mesmo quando o preparo biomecânico é cuidadosamente executado. (PIVA et al.,2009; AZEVEDO,BARCELOS & PRIMO,2009; TOLEDO et al.,2010)

As pastas utilizadas demonstraram diferentes tamanhos de halos de inibição na difusão no ágar. Segundo Andolfatto (2011), a extensão do halo de inibição não necessariamente

reflete o poder antimicrobiano do material, os resultados correspondem a uma média dos halos de inibição já que o teste foi feito em duplicata.

Analisando isoladamente as substâncias, os resultados demonstraram o favorável potencial antimicrobiano da pasta Guedes Pinto, contra todos os microrganismos-teste, corroborando com as pesquisas de MELLO-MOURA (2007); PIVA(2009) e ROSSATO (2011), porém como o Rifocort, que é um dos principais componentes da pasta, não está mais no mercado, é necessário achar uma pasta com eficácia semelhante para que se possa substituí-la.

Vários autores concluíram que, nos canais radiculares de dentes decíduos portadores das condições clínicas e radiográficas mencionadas, há a presença de infecção polimicrobiana com predomínio de microrganismos anaeróbios (SILVA, 2006; OLIVEIRA, 2010; ROCHA 2010; SILVA et al.,2011).

Das cepas microbianas que foram utilizadas, o *Enterococcus faecalis*, que é uma bactéria anaeróbia facultativa Gram-positiva, é o microrganismo mais comumente encontrado em casos de insucessos. Muitos pesquisadores analisaram a atividade microbiana de várias pastas obturadoras contra o *E. faecalis* relatando a pouca efetividade, com insuficiente ou nenhuma capacidade de eliminação da bactéria estudada (ROCHA et al.,2010; PEREIRA,2011). Quando analisamos os resultados, levando em consideração o potencial bactericida contra esse microrganismo, a Hydropast obteve o melhor resultado, equiparando-se ao resultado da pasta Guedes Pinto. Já para Andolfatto (2011), a Hydropast não obteve este resultado, pois em sua pesquisa todos os curativos de demora testados obtiveram efeito antimicrobiano contra os microrganismos-teste, incluindo o *Enterococcus faecalis* exceto a Hydropast + I.

A pasta Calen possuiu o segundo melhor potencial antimicrobiano contra o *Lactobacillus casei* e o *Streptococcus salivarius*, porém apresentou baixa atividade

antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* o que corrobora com Piva (2009), onde a pasta Calen® apresentou halos de inibição que variaram entre 6 e 7mm.

A pasta Guedes Pinto Modificada com Omcilon apresentou baixa atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos-teste, principalmente frente ao *Enterococcus faecalis*. O que nos possibilita concluir o quão importante se faz o uso do Rifocort, pois segundo pesquisa rerealizada por Costa et al (2008), considerando as substâncias isoladamente, o Rifocort® foi a substância que produziu maior halo de inibição e maior eficácia frente ao *Enterococcus faecalis*.

A pasta Calen Modificada, espessada com óxido de zinco, também apresentou baixa atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos-teste, corroborando com os achados de Fernandes e colaboradores (2006), onde a pasta Calen espessada com óxido de zinco apresentou os resultados mais negativos. Já na pesquisa de Queiroz et al (2008), onde o mesmo comparou o diâmetro dos halos de inibição ocasionados pela pasta Calen® com os da pasta Calen® espessada com óxido de zinco, este verificou um pequeno aumento na segunda pasta, exceto para o *Staphylococcus aureus*. Nos estudos de Lima e colaboradores (2012) onde avaliaram a eficácia antimicrobiana de medicamentos intracanal a base de hidróxido de cálcio contra *Enterococcus faecalis*. Concluíram que as associações Calen / PMCC (14 dias) e Calen / CHX (7 ou 14 dias) foram mais eficazes na eliminação de *E. faecalis*.

Com a saída de um dos componentes da Pasta Guedes Pinto do mercado necessita-se da substituição segura do material usado na obturação de canais de dentes decíduos. A Hydropast mostrou bons resultados na avaliação da atividade antibacteriana, mas novos estudos são necessários para avaliação de sua facilidade de inserção, reabsorção fisiológica em dentes decíduos e de sua biocompatibilidade.

## 8 CONCLUSÕES

Com base na metodologia aplicada e nos resultados obtidos por este estudo, concluiu-se que:

- A pasta Guedes Pinto demonstrou favorável potencial antimicrobiano contra todos os microrganismos testados, porém um de seus componentes, o Rifocort, não está mais no mercado.
- A Hydropast obteve resultados semelhantes à pasta Guedes Pinto, principalmente frente ao *Enterococcus faecalis*.
- A pasta Calen possuiu o segundo melhor potencial antimicrobiano contra o *Lactobacillus casei* e o *Streptococcus salivarius*, porém apresentou baixa atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*.
- As pastas Calen Modificada e a Guedes Pinto Modificada apresentaram baixa atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados.

## REFERÊNCIAS

1. ANDOLFATTO, C., Avaliação histológica e microbiológica de curativos de demora à base de hidróxido de cálcio usados em endodontia. 2011. (Mestrado) UNESP - Universidade Estadual Paulista Faculdade De Odontologia De Araraquara
2. ANDOLFATTO, C., SILVA, G.F., CORNÉLIO, A.L.G, TANOMARU, J.M.G, TANOMARU-FILHO, M., FARIA, G, BONETTI FILHO, I., CERRI, P.S., Biocompatibility of Intracanal Medications Based on Calcium Hydroxide. ISRN Dentistry. 2012, 6 pages. UNESP - Universidade Estadual Paulista Faculdade De Odontologia De Araraquara
3. AZEVEDO, C.P., BARCELOS, R., PRIMO, L.G, Variabilidade das técnicas de tratamento endodôntico em dentes decíduos: Uma revisão de literatura. Arquivos em Odontologia Volume 45, Nº 01, Janeiro/Março. 2009.
4. BAUER, J. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Amer. Clin. Pathol., v.45, p.493-496. 1969.
5. COSTA, E. M. M. B., ESMERALDO, M. R. A., CARVALHO, M. G. F., DANIEL, R. L. D. P., PASTRO, M. F. Avaliação da Ação Antimicrobiana da Própolis e de Substâncias Utilizadas em Endodontia sobre o *Enterococcus faecalis*. Pesq Bras Odontoped Clin Integr, João Pessoa, 8(1):21-25, jan./abr. 2008
6. CUNHA, C. B. C. S., BARCELOS, R., PRIMO, L. G. Soluções irrigadoras e Materiais Obturadores Utilizados na Terapia Endodôntica de Dentes Decíduos. Pesq Bras Odontoped Clin Integr, João Pessoa, v. 5, n. 1, p. 75-83, jan./abr. 2005
7. FERNANDES, A. V., GIRO. E. M. A., COSTA. C. A. S. Resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães com necrose pulpar e reação periapical crônica ao

- tratamento endodôntico utilizando diferentes pastas obturadoras. Rev Odontol UNESP. 2006; 35(1): 29-39.
8. LEONARDO, M.R., Endodontia: tratamento de canais radiculares: Princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas, 2005.
  9. LIMA,R.K.P., GUERREIRO-TANOMARU, J.M., FARIA-JÚNIOR, N.B, TANOMARU-FILHO M. Effectiveness of calcium hydroxidebased intracanal medicaments against Enterococcus faecalis. International Endodontic Journal, 45, 311–316, 2012.
  10. MELLO-MOURA,A.C,V., CERQUEIRA D.F., SANTOS,E.M. Pasta Guedes-Pinto – Revisão de literatura: 26 anos de estudos sobre citotoxicidade, citotóxicos, histopatológicos, microbiológicos e clínicos. RPG Rev Pós Grad. 2007;14(3):260-6.
  11. OLIVEIRA, E. P. M., IRALA. L. E. D.,SANTOS, A. R., MELO, T. A. F., Avaliação da ação antimicrobiana de quatro formulações a base de hidróxido de cálcio utilizadas como medicação intracanal. RFO, v. 15, n. 1, p. 35-39, janeiro/abril 2010
  12. PEREIRA, M.J., PARREIRA, M.L.J., CHAVASCO, J.K., Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de pastas à base de hidróxido de cálcio. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 9, n. 2, p. 328-336, ago./dez. 2011.
  13. PIVA,F , JUNIOR, I.M.F, FELDENS, C.A.,ESTRELA, C.R.A., Ação antimicrobiana de materiais empregados na obturação dos canais de dentes decíduos por meio da difusão em Agar:in vitro. Pesq Bras Odontoped Clin Integr, João Pessoa, 9 (1):13-17, jan./abr. 2009.
  14. QUEIROZ, A. M. Materiais Obturadores de Canais Radiculares de Dentes Decíduos: Avaliação da Atividade Antibacteriana In Vitro e da Compatibilidade Tecidual In Vivo. 2008. (Doutorado).USP- Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto.

15. ROCHA, C., IRALA, L.E.D., SALLES, A.A., GRAZZIOTIN-SOARES,R., Atividade antimicrobiana do PMCC,por contato direto e vapor, frente ao *Enterococcus faecalis* e ao *Staphylococcus aureus*. Stomatos, v.16, n.31, jul./dez. 2010.
16. ROSSATO,TCA., HARTMANN, A., VARGAS-FERREIRA, F., PRAETZEL, JR. Ação Antimicrobiana de pastas obturadas usadas na dentição decídua. UFPEL, CIC 2011.
17. SILVA, M.A.G.S., MENDONÇA,E.F., RODRIGUES,K.F.M., BARIANI, C., SILVA, G.B.L., Avaliação da atividade antimicrobiana do Formocresol e do Paramonoclorofenol Canforado. Robrac, 15 (40), 2006 ISSN 1981 – 3708.
18. SILVA, S. Y. A. A. S., SILVA, L. E., KALIL, M. T. A. C., LEAL, B., CORREA, L. C. Revista Fluminense de Odontologia - ISSN 1413-2966 ANO XVII - Nº 36 - JUL/DEZ - 2011
19. TOLEDO, R., BRITTO, M.L.B., PALLOTTA, R.C., NABESHIMA, C.K., Hidroxido de Cálcio e Iodofórmio no tratamento endodontico de dentes com Rizogênese Incompleta. Int J Dent, Recife, 9(1):28-37, jan./mar. 2010.