

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



EDUARDO ANTUNES BORTOLUZZI

Influência do cloreto de cálcio no tempo de presa,
solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do
MTA e do cimento Portland branco com radiopacificador

Araraquara

2007

EDUARDO ANTUNES BORTOLUZZI

Influência do cloreto de cálcio no tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco com radiopacificador

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Doutor em Odontologia - Área de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard

Co-Orientador: Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante

Araraquara

2007

Bortoluzzi, Eduardo Antunes

Influência do cloreto de cálcio no tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco com radiopacificador / Eduardo Antunes Bortoluzzi. – Araraquara: [s.n.], 2007.

77 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard

Co-orientador: Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante

1. Cimentos dentários 2. Cloreto de cálcio 3. Materiais restauradores do canal radicular 4. Agregado de trióxido mineral
I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley Cristina Chiusoli Montagnoli CRB 8/5646

Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

Eduardo Antunes Bortoluzzi

Influência do cloreto de cálcio no tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco com radiopacificador

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard

2º Examinador: Prof. Dr. Marco Antônio Hungaro Duarte

3º Examinador: Prof. Dr. Wilson Tadeu Felipe

4º Examinador: Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho

5º Examinador: Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

Araraquara, 21 de maio de 2007.

Eduardo Antunes Bortoluzzi

05 de Agosto de 1973	Nascimento em Tubarão, Santa Catarina, Brasil.
Filiação	Adalberto Ghizzo Bortoluzzi e Dalcy Antunes Bortoluzzi
1993 – 1998	Curso de Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina
1999 – 2000	Curso de Especialização em Endodontia na Universidade Federal de Santa Catarina
1999 – 2001	Professor Substituto da Disciplina de Endodontia da Universidade Federal de Santa Catarina
2002 – 2003	Professor Voluntário da Disciplina de Endodontia da Universidade Federal de Santa Catarina
2003 – 2005	Curso de Pós-Graduação em nível de Mestrado em Odontologia, Área de concentração em Endodontia, na Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo
2006 – 2007	Curso de Pós-Graduação em nível de Doutorado em Odontologia, Área de concentração em Endodontia, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Associações	ABO - Associação Brasileira de Odontologia - SC ACE - Associação Catarinense de Endodontia SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica IADR - International Association for Dental Research

DEDICATÓRIA

A Deus

"O senhor é minha força e meu escudo; Nele o meu coração confia, Dele recebo auxílio." Sl 28:7

A meu pai, Adalberto

Pelos ensinamentos e orientações.

Pelo exemplo de vida, caráter, coragem, dignidade e honestidade.

Pelo apoio e incentivo constantes possibilitando a conquista dos meus objetivos.

Pela amizade e amor incondicional, e confiança depositada em mim...

*...palavras não são suficientes para expressar o
amor e a admiração que sinto por você!*

Te amo muito !!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador

Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard,

Pela preciosa orientação, ensinamentos recebidos, pela paciência e confiança em mim depositada. Pelo apoio, convivência, amizade que foram fundamentais para realização deste trabalho e contribuíram muito para o meu desenvolvimento e crescimento profissional e pessoal.

Ao meu co-orientador

Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante,

Pelas sugestões valiosas que contribuíram significativamente com o trabalho. Pela amizade que muito me honra, e pelo privilégio dessa convivência, que contribui de modo especial para minha formação.

Meu sincero respeito e gratidão a vocês

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", através da sua atual diretora, Prof. Dr. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, e ao Programa de Pós-Graduação em Endodontia, na pessoa de seu atual coordenador, Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho, pelo apoio à pesquisa.

Aos Professores da disciplina de Endodontia da FOAr-UNESP, Mario Roberto Leonardo, Idomeo Bonetti Filho, Mário Tanomaru Filho, Renato de Toledo Leonardo, Fabio Luiz Camargo Vilella Berbert e Juliane Guerreiro Tanomaru, pelos ensinamentos, orientações nas aulas e nas pesquisas, e pela amizade.

Aos Professores da Disciplina de Endodontia da UFSC, Ana Maria Hecke Alves, Beatriz D. Souza Mendes, Cleonice da Silveira Teixeira, Luciano Rodrigues Veiga, Mara Cristina Santos Felipe, Maria Helena Pozzobon, Nelson Luiz da Silveira, Patrícia Regina Vigano, Wilson Tadeu Felipe, e aos funcionários do Laboratório de Pesquisas em Endodontia-UFSC, Jacqueline Caldeira de Andrada Natividade, Marly Nunes e Sérgio Batista Andrade, pela amizade, convivência, apoio e incentivo. Mais uma conquista nossa!

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, especialmente da minha turma de doutorado: Anderson, Alexandre, Bier, Cristiane, Denise, Erick, Fernanda, Fernandinho, Henrique, Gustavo, Jose Carlos Rivas, Marco Aurélio, Maurício, Renatinho, Renata, Ronaldo, e os alunos do mestrado: Fabíola, Fernandão, Hernan Freddy, Regina, Júlio Cezar, Vivian, Erika, Norberto, Santiago, Hugo, Frederico, Mr. X, Thunder, Adriana e Claudia, pela convivência, aprendizado e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora da FOFr-UNESP, em especial à Célia, Creusa, Pedrão, Marinho, Adriana, Cida, pelo convívio amigável e atenção que sempre me dispensaram.

Aos funcionários Pedrinho (Histologia) e Zé (Patologia) pela acolhida e ajuda nas pesquisas.

Ao Prof. Dr. Luís Geraldo Vaz, pela amizade, pelo empréstimo da balança de precisão, ensinamentos e pelas ricas discussões sobre química e metodologia.

Ao amigo Marco Antonio Húngaro Duarte pela atenção e ajuda na elaboração da estatística.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, Marinha, Rosângela, Alexandre e Flávia, pela educação e carinho com que sempre me trataram.

A Maria Helena, pela orientação na organização desta tese e das referências bibliográficas. Também agradeço aos funcionários da biblioteca Silvia, Adriano, Maria Inês e Eliane, os quais sempre me atenderam com muita educação e amizade nas buscas bibliográficas.

A CAPES, pelo suporte financeiro.

E a todos aqueles que de alguma forma colaboraram na minha formação e realização deste trabalho

Muito obrigado !

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	11
RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 Tempo de presa, pH, solubilidade e desintegração do MTA	21
2.2 Atividade antimicrobiana do MTA	27
2.3 Cloreto de cálcio e seu efeito no cimento Portland	32
2.3.1 Emprego do cloreto de cálcio na Odontologia	34
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODO	41
4.1 Material	41
4.2 Método	41
4.2.1 Tempo de presa, solubilidade, desintegração e pH	41
4.2.1.1 Tempo de presa	42
4.2.1.2 Solubilidade e desintegração.....	42
4.2.1.3 pH	44
4.2.2 Atividade antimicrobiana	45
5 RESULTADO	47
5.1 Tempo de presa	47
5.2 Solubilidade e desintegração	47
5.3 pH	49
5.4 Atividade antimicrobiana	51

6 DISCUSSÃO	53
6.1 Tempo de presa, solubilidade, desintegração e pH	53
6.2 Atividade antimicrobiana	61
7 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	66
ANEXOS	76
Anexo 1	76
Anexo 2	77

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADA	- American Dental Association
ASTM	- American Society for Tests and Materials
ATCC	- American Type Culture Collection
BHI	- Brain Heart Infusion
Ca^{2+}	- íon cálcio
Ca(OH)_2	- hidróxido de cálcio
CIV	- cimento de ionômero de vidro
CPB	- cimento Portland branco
EBA	- ácido etoxybenzóico
EDTA	- ácido etileno diaminotretacético
EUA	- Estados Unidos da América
Hg	- mercúrio
H.E.	- Hematoxilina e Eosina
IRM	- Material Restaurador Intermediário
ISO	- International Organization for Standardisation
NaOCl	- hipoclorito de sódio
p	- nível de significância
pH	- potencial hidrogeniônico
ppm	- partes por milhão
PRO	- ProRoot MTA
MEV	- microscopia eletrônica de varredura
MHB	- Mueller Hinton Broth
MTA	- Mineral Trioxide Aggregate ou agregado de trióxido mineral
MTA	- MTA Branco (a partir do material e método)
TTC	- cloreto de trifenil tetrazólico

UI	- Unidades Internacionais
UFC	- Unidade Formadora de Colônias
#	- número

Bortoluzzi EA. Influência do cloreto de cálcio no tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco com radiopacificador [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2007.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do acréscimo de 10% de cloreto de cálcio (CaCl_2) no tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA Branco (MTA) e cimento Portland branco com radiopacificador (CPB). O ProRoot MTA (PRO), com e sem CaCl_2 , também foi incluído no teste de atividade antimicrobiana. O teste do tempo de presa inicial seguiu a especificação #57 da ADA e o do tempo de presa final a da ASTM (C266-03). Para os testes de solubilidade, desintegração e pH foram utilizados 6 anéis de teflon para cada cimento, medindo 4 mm de espessura e 12 mm de diâmetro interno com parede de 2 mm. Depois de preenchidos, os anéis foram mantidos por 24 e 72 h e 7, 14 e 28 dias em água MiliQ, que foi renovada no fim de cada período. Após cada período, os cimentos foram desidratados em dessecador com sílica por 24 h. Foi registrado o peso de cada cimento hidratado e desidratado. O pH da água onde os cimentos permaneceram imersos foi medido por um pHmetro. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela técnica da difusão em ágar, empregando o método do poço. Os microrganismos utilizados foram procedentes da ATCC: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*. O acréscimo do CaCl_2 proporcionou uma diminuição de 50% do tempo de presa inicial dos cimentos. Já o tempo de presa final do MTA foi diminuído em 35,5% e o do CPB em 68,5%. Os resultados do teste de solubilidade mostraram que o MTA+ CaCl_2 absorveu água e não perdeu peso com o passar do tempo, exceto no período de 24 h. O MTA, tanto hidratado quanto desidratado, perdeu peso, mas com valores aceitáveis pela ADA. O CPB apresentou maior solubilidade, a qual foi diretamente proporcional ao tempo de imersão das amostras. Entretanto, o acréscimo do CaCl_2 ao CPB diminuiu a sua solubilidade. Tanto o CPB quanto o CPB+ CaCl_2 não se enquadram na recomendação da ADA. Todos os cimentos, com e sem CaCl_2 , apresentaram elevados valores de pH, principalmente nos períodos iniciais. Apresentaram também atividade antimicrobiana, sem diferença estatística significativa entre eles. O acréscimo de 10% de CaCl_2 ao MTA e ao CPB diminui os tempos de presa e a

solubilidade de ambos; aumentou significamente o pH do MTA nos períodos imediato, 24 e 72 h e o do CPB nos períodos imediato e 24 h; e não interferiu na atividade antimicrobiana dos cimentos.

Palavras-chave: cimento Portland; cloreto de cálcio; MTA.

Bortoluzzi EA. Influence of calcium chloride as a radioopacifier on the setting time, solubility, desintegration, pH, and antimicrobial activity of MTA and white Portland cements [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2007.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of adding 10% calcium chloride (CaCl_2) on the setting time, solubility and dissolution, pH, and antimicrobial activity of white MTA (MTA) and Portland cement with radioopacifier (CPB). ProRoot MTA (PRO) with and without CaCl_2 was also included in the antimicrobial activity test. Setting time testing followed the specification #57 of ADA and final setting time testing was made according to C266-03 ASTM standard. Six teflon rings (4 mm thickness, 12 mm internal diameter, 2 mm height) used for the solubility, dissolution, and pH tests were stored in deionized water for 24h, 72 h, 7d, 14d, and 28d, which was renewed at the end of each storage period. After the storage periods, the specimens were dehydrated in a desiccator containing silica gel for 24h. The specimens were weighted before and after dehydration and pH of water was measured using a pH-meter. Antimicrobial activity was evaluated using an Agar well diffusion technique. The following microorganisms were used: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and *Staphylococcus epidermidis* (ATCC). Adding of CaCl_2 yielded a 50% reduction of the initial setting of the cements. Final setting time of MTA cement was reduced approximately 35.5% and CPB's final setting time was reduced by 68.5%. Solubility results have shown that the MTA+ CaCl_2 absorbed water and did not lost weight with time, except for the 24h-storage period. Hydrated and dehydrated MTA presented weight loss, but within acceptable limits stated by ADA. CPB presented greater solubility, proportional to the immersion time, i.e., the greater the storage period the greater the weight loss. However, adding CaCl_2 to the CPB did not decrease the solubility. Both CPB and CPB+ CaCl_2 did not satisfy ADA requirements. All cements, with or without CaCl_2 , presented high pH values, mainly in the initial periods. In addition, they presented antimicrobial activity, with no statistically significant differences. Adding 10% CaCl_2 to MTA or to CPB decreased the setting time and the solubility of these cements, while increased significantly the pH of MTA in the immediate, 24h and 48h

periods, and of CPB in the immediate and 24-hour periods, but did not influenced the antimicrobial activity of the cements.

Keywords: Portland cement; calcium chloride; MTA.

1 Introdução

A terapia endodôntica tem atingido altos índices de sucesso graças ao avanço científico e tecnológico que propicia ao endodontista a solução para a maioria dos casos. No entanto, a complexidade anatômica do sistema de canais radiculares e/ou a presença de biofilme apical podem comprometer a eficácia do tratamento na redução dos microrganismos e seus subprodutos levando ao insucesso. A cirurgia parendodôntica está indicada nestas situações ou na impossibilidade do retratamento endodôntico devido à presença de retentores intraradiculares ou outros obstáculos.

Uma das modalidades da cirurgia, a apicectomia com obturação retrógrada, consiste na ressecção da porção apical radicular, seguida da confecção de uma cavidade e preenchimento da mesma com um material retroobturador (Bramante et al.¹⁶, 2000; Bernabé, Holland¹², 2004).

Vários materiais retroobturadores têm sido avaliados na busca de um material com propriedades físico-químicas e biológicas ideais. De acordo com Gartner, Dorn⁴⁰ (1992) ele deve prevenir a passagem de microrganismos e seus produtos, ser atóxico, biocompatível, não carcinogênico, insolúvel aos fluidos tissulares, dimensionalmente estável, não deve ser afetado pela umidade, ser de fácil manipulação, e possuir radiopacidade suficiente para facilitar sua identificação radiográfica.

Dentre os muitos materiais propostos e estudados podem ser citados: o amálgama de prata, a guta-percha, cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (IRM, Super EBA, Rickert), ionômero de vidro, resinas compostas, cimentos que contêm hidróxido de cálcio (Sealapex, Sealer 26) e mais recentemente o agregado de trióxido mineral (MTA) (Bernabé, Holland¹², 2004; Torabinejad et al.⁹⁷, 1993; Torabinejad et al.⁹⁸, 1994).

O MTA surgiu no início dos anos 90 como material experimental desenvolvido por Torabinejad e equipe para selar as comunicações entre o sistema de canais radiculares e o periodonto, principalmente em perfurações (Torabinejad et al.⁹⁷, 1993; Torabinejad et al.⁹⁸, 1994).

O MTA é um pó branco ou cinza composto por finas partículas hidrofílicas, cujos principais componentes são silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico e óxido silicato. Existem, ainda, pequenas quantidades de outros óxidos minerais que são responsáveis

pelas propriedades físicas e químicas do agregado, tais como, o óxido de bismuto, que tem a finalidade de lhe conferir radiopacidade (Torabinejad et al.⁹⁹, 1995). Segundo o fabricante do ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental²⁴, 2003), ele é composto de 75% de cimento Portland, 20% de óxido de bismuto e 5% de sulfato de cálcio di-hidratado. Tanto o MTA quanto o cimento Portland são constituídos pelas mesmas substâncias (Estrela et al.³², 2000; Dammaschke et al.²¹, 2005; Islam et al.⁴⁸, 2006). De 15 elementos químicos testados, 14 se mostraram idênticos, em parte por milhão (ppm) e peso (Funteas et al.³⁹, 2003), exceto pela presença do óxido de bismuto no MTA (Estrela et al.³², 2000; Funteas et al.³⁹, 2003).

A hidratação do pó forma um gel coloidal que se solidifica em menos de 3 h (Lee et al.⁵⁸, 1993), resultando numa estrutura dura, passando a ser constituído por óxido de cálcio (na forma de cristais discretos) e fosfato de cálcio (como uma estrutura amorfa), com aparência granular.

Depois de aprovado pela “U. S. Food and Drugs Administration”, em 1998 (Schwartz et al.⁷⁹, 1999), o MTA começou a ser utilizado em outras situações ampliando suas indicações: capeamento pulpar direto (Pitt Ford et al.⁶⁸, 1996; Tziafas et al.¹⁰⁶, 2002), pulpotomia (Soares⁸⁷, 1996; Holland et al.⁴⁵, 2001; Menezes et al.⁶³, 2004), preenchimento de áreas de reabsorção interna e externa (Schwartz et al.⁷⁹, 1999; Hsien et al.⁴⁶, 2003), *plug* cervical (Mah et al.⁶¹, 2003), tampão apical em dentes com rizogênese incompleta (Torabinejad, Chivian⁹⁶, 1999; Witherspoon, Ham¹⁰⁹, 2001; Felipe et al.³⁵, 2006), selamento cervical prévio ao clareamento (Torabinejad, Chivian⁹⁶, 1999), obturação do canal (Holland et al.⁴², 1999; O’Sullivan, Hartwell⁶⁷, 2001) e recentemente como reforço intra-radicular de dentes com rizogênese incompleta (Andreasen et al.⁹, 2006) ou com fratura radicular (Bramante et al.¹⁷, 2006). Na maioria das pesquisas o MTA se mostrou superior a outros materiais.

As características físico-químicas do MTA dependem diretamente do tamanho das partículas, proporção pó/líquido, temperatura, presença de água e de bolhas de ar durante a manipulação (Torabinejad et al.⁹⁷, 1993). Recém preparado, apresenta pH de 10,2, elevando-se para 12,5 após 3 h, e então permanece constante. Após presa, possui resistência à compressão de aproximadamente 40 MPa em 24 h, e após 21 dias de 67 MPa (Torabinejad et al.⁹⁹, 1995).

Devido a sua natureza hidrofílica, não é essencial utilizá-lo em campo seco (Torabinejad et al.⁹⁸, 1994), sendo uma de suas principais vantagens em relação a outros materiais retroobturadores. Além disso, apresenta boa capacidade seladora em estudos in vitro

por infiltração de corantes (Lee et al.⁵⁸, 1993), bactérias (Torabinejad et al.¹⁰¹, 1995), endotoxinas (Tang et al.⁹³, 2002) e saliva (Al-Hezaimi et al.², 2005). Esta propriedade do MTA não é afetada por sangue (Torabinejad et al.⁹⁸, 1994), umidade (Sluyk et al.⁸⁶, 1998) ou ambiente com pH 5.0 (Roy et al.⁷⁵, 2001) e, provavelmente, está relacionada a sua ligeira expansão após presa, a qual determina uma melhor adaptação às paredes dentinárias (Sluyk et al.⁸⁶, 1998; Torabinejad et al.¹⁰², 1995).

Pesquisas *in vitro* e *in vivo* mostraram que o MTA é biocompatível (Menezes et al.⁶³, 2004; Ribeiro et al.⁷⁴, 2005) e não mutagênico (Kettering, Torabinejad⁵², 1995). Em estudos realizados com culturas de células estimulou a proliferação de cementoblastos (Thomson et al.⁹⁴, 2003), fibroblastos (Keiser et al.⁵¹, 2000), osteoblastos (Koh et al.⁵⁵, 1998), de células cancerígenas (Camilleri et al.¹⁸, 2004) e da polpa (Takita et al.⁹¹, 2006). Quando em contato com os tecidos perirradiculares, no selamento de perfurações (Pitt Ford et al.⁶⁹, 1995; Holland et al.⁴³, 2001), na retroobturaç o (Torabinejad et al.¹⁰³, 1995; Torabinejad et al.¹⁰⁴, 1997; Regan et al.⁷², 2002; Economides et al.²⁹, 2003) e como plug apical (apicifica  o) (Felippe et al.³⁵, 2006), propicia condições favoráveis ao reparo, estimulando a migra  o e a diferencia  o de novas células, forma  o de tecido mineralizado e a neoforma  o de fibras periodontais. Além disso, o MTA    considerado um cimento osteo-cimento-condutivo (Thomson et al.⁹⁴, 2003; Moretton et al.⁶⁶, 2000). Quando em contato com a polpa induz a forma  o de dentina reparadora (Tziafas et al.¹⁰⁶, 2002) e a forma  o de barreiras de tecido mineralizado mais espessas e completas quando comparadas ao hidróxido de cálcio (Soares⁸⁷, 1996; Faraco, Holland³⁴, 2001).

Apesar de possuir boas propriedades físico-químicas e biológicas, o MTA apresenta alguns inconvenientes: seu longo tempo de presa pode favorecer a solubilidade e/ou desintegra  o ou seu deslocamento da cavidade retrógrada (Kogan et al.⁵⁴, 2006), sua consistência arenosa dificulta a inser  o no retropreparo e em perfura  es (Lee et al.⁵⁹, 2004), e seu custo    relativamente alto (Saidon et al.⁷⁶, 2003; Menezes et al.⁶³, 2004).

Levando em conta a semelhança entre MTA e cimento Portland, recentes pesquisas utilizaram aditivos da constru  o civil agregados a estes materiais com o intuito de melhorar suas propriedades físico-químicas (Abdullah et al.¹, 2002; Harrington⁴¹, 2005; Juarez-Broon et al.⁵⁰, 2006; Bortoluzzi et al.¹⁴, 2006; Bortoluzzi et al.¹³, 2006; Kogan et al.⁵⁴, 2006). O aditivo mais utilizado tem sido o cloreto de cálcio (CaCl₂). Quando foi utilizado nas concentra  es de

5 a 15% diminuiu o tempo de presa do MTA e do cimento Portland (Kogan et al.⁵⁴, 2006; Harrington⁴¹, 2005). O CaCl_2 a 10% melhora a capacidade seladora do MTA (Bortoluzzi et al.¹⁴, 2006), mantém seu pH elevado, em torno de 10 a 11,7 e potencializa a liberação de íons cálcio em 24 h (Bortoluzzi et al.¹³, 2006).

A adição dos aditivos pode ser a solução para os inconvenientes do MTA. Entretanto, o efeito destes sobre o MTA deve ser melhor investigado, uma vez que algumas das suas propriedades podem ser melhoradas outras até podem ser perdidas. Por exemplo, o CaCl_2 melhora a capacidade seladora, mas ao mesmo tempo aumenta o pH e a liberação de cálcio (Bortoluzzi et al.¹⁴, 2006; Bortoluzzi et al.¹³, 2006). Isso pode significar solubilização de parte do material, o que comprometeria sua integridade. Também não é conhecido o efeito do CaCl_2 sobre a atividade antimicrobiana do MTA.

Como a literatura é escassa, ainda não é conclusiva a indicação do acréscimo de aditivos ao MTA. Para melhor compreensão, a revisão que se segue mostra o estado atual dos trabalhos sobre o assunto.

2 Revisão da literatura

Este capítulo revisa os principais trabalhos sobre as propriedades físico-químicas e antimicrobiana do MTA e apresenta informações sobre o cloreto de cálcio e seu emprego na Odontologia.

2.1 Tempo de presa, solubilidade, desintegração e pH do MTA

Torabinejad et al.⁹⁹, em 1995, determinaram a composição química, o pH, a radiopacidade, o tempo de presa, a resistência à compressão e a solubilidade do MTA e compararam algumas destas propriedades com as do amálgama, Super-EBA e IRM. A análise espectrométrica mostrou que as principais elementos presentes no MTA foram os íons cálcio e fósforo. Após a presa, o MTA estava dividido em 2 fases, uma de óxido de cálcio e outra de fosfato de cálcio, e em análises posteriores a primeira se apresentou como cristais discretos e a última como uma estrutura amorfa, de aparência granular. A composição média dos prismas foi de 87% de cálcio e 2,47% de sílica e o restante composto por oxigênio. Em áreas de estrutura amorfa foram observados 49% de fosfato, 2% de carbono, 3% de cloreto e 6% de sílica. As normas da ISO 6876 e especificação #30 da ADA foram utilizadas para os outros testes. O pH do MTA logo após a mistura foi de 10,2, após 3 h aumentou para 12,5 e então permaneceu constante. A radiopacidade média do MTA foi de 7,17 mm/Al, superior a do Super-EBA e do IRM. O amálgama apresentou o menor tempo de presa (4 min), seguido pelo IRM (6 min), Super-EBA (9 min) e MTA (2 h 45 min). Nas primeiras 24 h, o MTA apresentou menor resistência à compressão, de 40 MPa, que aumentou para 67 MPa após 21 dias, superando a do IRM (57,4 MPa) e ficando próxima a do Super-EBA (78,1 MPa). O amálgama foi o mais resistente nos 2 períodos avaliados. Nas condições experimentais estudadas, só o IRM apresentou solubilidade.

Silva Herzog-Flores et al.⁸¹, em 2000, fizeram uma análise química e física do MTA. A composição química, determinada por ensaios analíticos, difração de raios-X e MEV, mostrou que 18,8% do material é insolúvel em água, 0,36% é óxido de magnésio e 90% óxido de cálcio. A cristalinidade (80%) foi perdida em 1 h e 30 min sob aquecimento direto. O pH, medido por

potenciômetro, foi de 11,54 e 12,05 e a liberação de íons cálcio, verificada por meio de espectrofotômetro de absorção atômica, foi de 8,8 ppm nos períodos de 24 h e 7 dias, 10,08 ppm aos 15 dias e 10,10 ppm aos 21 dias. O ponto de fusão do MTA, determinado por calorimetria, ocorreu a 100 °C. Concluíram que o MTA é um composto complexo que se destaca pelo alto conteúdo de cálcio unido quimicamente ao magnésio, alumínio, sílica e óxidos.

Deal et al.²³ (2002) compararam as propriedades químicas e físicas do ProRoot MTA, cimento Portland e de um material experimental, o MTA de presa rápida. Foi empregada espectroscopia de energia dispersa e o teste de inductibilidade de plasma para análise química. O pH e o tempo de presa foram avaliados segundo as normas da ANSI/ADA, especificação #96. A proporção pó/líquido utilizada foi de 1g/0,35 mL para todos os materiais. Os materiais testados apresentaram composição química semelhante, inclusive na presença do bismuto em uma proporção de 20,1% para o ProRoot MTA, 17,3% para o cimento Portland e 15,5% para o MTA de presa rápida. Imediatamente após a manipulação o pH foi de 11,72 para o ProRoot MTA, 11,74 para o cimento Portland e 11,69 para o MTA de presa rápida; depois de 30 min foi de 12,3 para os dois primeiros e não medido para o MTA de presa rápida, por estar no estado sólido. O tempo de presa foi de 156 min para o ProRoot MTA, 159 min para o cimento Portland e 17 min para o MTA de presa rápida. Segundo os autores o MTA de presa rápida apresentou propriedades químicas semelhantes às dos outros materiais, porém com tempo de presa significativamente reduzido.

Silva et al.⁸², em 2002, avaliaram o comportamento do ProRoot MTA em relação ao cimento Portland (Votoram), quanto à estabilidade dimensional e solubilidade/desintegração, com base na especificação #57 da ADA. Para a estabilidade dimensional, confeccionaram corpos de prova cilíndricos, com dimensões de 6 mm de diâmetro por 12 mm de altura, que após mensuração de seus comprimentos foram mantidos em 30 mL de água destilada por 30 dias, seguido de nova mensuração. Para solubilidade/desintegração, os corpos de prova utilizados tinham 20 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura, os quais, depois de pesados, foram mantidos em 50 mL de água destilada por 7 dias, seguido de nova pesagem. Os resultados para a estabilidade dimensional foram: ProRoot MTA=+0,12% e cimento Portland=+0,95%, valores

dentro das normas da ADA, e para solubilidade/desintegração: ProRoot MTA=-7,19% e cimento Portland=-7,76%, valores acima do determinado pela ADA.

Duarte et al.²⁷, em 2003, avaliaram o pH e a liberação de íons cálcio do ProRoot MTA e do MTA-Angelus após 3, 24, 72 e 168 h, por meio de pHmetro e espectrofotômetro de absorção atômica. Utilizaram 5 tubos de plástico de 1 cm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro interno, preenchidos com cada material, que foram imersos em 10 mL de água deionizada, trocada após cada período. Em todos os períodos, o MTA-Angelus forneceu valores discretamente maiores de pH (9,52; 9,37; 9,32 e 9,30) e de liberação de íons cálcio (1,66; 1,38; 0,88; 0,93 mg/dL) quando comparado ao ProRoot MTA (9,32; 9,07; 9,02; 9,22 e 1,23; 0,96; 0,83; 0,92 mg/dL, respectivamente). Os valores de pH e liberação de cálcio foram maiores durante as 3 primeiras horas, depois tenderam a diminuir.

Fridland, Rosado³⁷, em 2003, avaliaram a solubilidade e a porosidade do MTA manipulado em diferentes proporções: 0,26; 0,28; 0,30 e 0,33 g de água para 1 g de pó. O teste de solubilidade seguiu as normas da ISO 6876 e a especificação #30 da ADA e a porosidade foi observada por MEV. O pH da água onde os espécimes foram imersos no teste de solubilidade também foi medido. Os resultados mostraram que o grau de solubilidade e a porosidade aumentam na medida em que a proporção de água/pó foi aumentada. Os valores de solubilidade em porcentagem foram: 1,76; 2,25; 2,57 e 2,83 ficando dentro da recomendação da ADA, inferiores a 3% do peso inicial. Na MEV foram observadas bolhas de ar, poros e estrutura capilar que poderiam estar relacionados com a porosidade do material. O pH das soluções ficaram entre 11,94 e 11,99. Os resíduos solubilizados na água foram preparados para análise química em espectrofotômetro de absorção atômica, revelando o cálcio como o principal componente liberado (482 mg/L), seguido pelo potássio (45 mg/L), sódio (21,40 mg/L), sulfato (5,20 mg/L) e ferro (4,96 mg/L).

Diamanti et al.²⁵, em 2003, analisaram e compararam a composição química, o pH e as características da superfície do MTA cinza com o MTA branco. Os resultados da composição química avaliada pela difração de raios-X mostraram semelhança aos cimentos Portland comuns, porém com diferenças entre os dois materiais. Não foi detectada presença de óxido de ferro

(Fe₂O₃) no MTA branco e sulfato de cálcio (CaSO₄) no MTA cinza. O pH da suspensão imediatamente após a mistura de 1 g do MTA branco com 20 mL de água destilada foi elevado e mantido constante durante um período de 2 h (11,32 - 11,38). Ambos, MTA cinza e branco apresentaram superfície rugosa, R_a=1,94 µm e R_a=1,90 µm, respectivamente. Concluíram que os MTAs são cimentos Portland e apresentam elevado pH e superfície rugosa após a presa.

Lee et al.⁵⁹ (2004) avaliaram a influência de diferentes ambientes fisiológicos nas propriedades físicas e no processo de hidratação do MTA. O MTA foi misturado com água estéril na proporção de 3:1, inserido em moldes e mantido em água destilada, soro fisiológico e soluções com pH 7 e 5. Após 7 dias foram preparados para análise de superfície em MEV. As fases cristalinas do MTA, antes e pós-hidratação, foram determinadas por difração de raios-X (XRD) e um teste de micro-dureza também foi realizado. A microestrutura do MTA hidratado consistiu em cristais cúbicos, principal estrutura, e cristais com forma de agulhas, entre os cúbicos e menos proeminentes. Entretanto, nos espécimes hidratados em pH 5, foi observada significativa erosão nas superfícies dos cristais cúbicos e nenhum cristal com forma de agulha. Na hidratação do MTA, 3 fases de hidratos de silicato de cálcio foram encontradas: C₃S, C₂S e C₃A, que diminuíram de intensidade pós-hidratação. O hidróxido de cálcio cristalizado (Portlandite) foi detectado em grande quantidade, exceto nos espécimes mantidos em pH 5, onde houve uma redução. A média de micro-dureza dos espécimes mantidos em pH 5 foi significativamente menor que as dos outros meios. Essencialmente, os resultados mostraram que o ambiente ácido deteriora fisicamente o MTA e interfere nas reações ocorridas durante sua hidratação.

Santos et al.⁷⁷, em 2005, compararam a liberação de íons cálcio, pH, e condutividade elétrica de um novo material, desenvolvido a partir do cimento Portland, com o MTA-Angelus. Cinco tubos plásticos, com 1 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento, preenchidos com os materiais, foram imersos em 10 mL de água deionizada, a qual foi analisada após 24, 48, 72, 96, 192, 240 e 360 h. A quantificação dos íons cálcio liberados foi realizada por meio de um espectrofotômetro de absorção atômica, a do pH por um pHmetro digital e a condutividade por um condutivímetro. A maior liberação de íons cálcio ocorreu após 24 h, principalmente oriundos do MTA experimental, e com o passar do tempo ocorreu sua diminuição, sendo semelhante para ambos os materiais. Em relação ao pH, ambos atingiram o pico de alcalinidade (próximo a 10,5)

após 24 h, a qual foi reduzindo até atingir uma estabilização, com um valor ligeiramente inferior a 8. A condutividade elétrica esteve diretamente relacionada com a liberação de íons, aumentada no período inicial e diminuída com o passar do tempo.

Chng et al.¹⁹, em 2005, estudaram as propriedades físico-químicas e a capacidade de selamento de um material experimental, o VERRM (Viscosity Enhanced Root Repair Material), comparando-as com as do ProRoot MTA cinza (GMTA) e branco (WMTA). O VERRM apresentou composição similar ao MTA, mas com características de manipulação e consistência similares a de materiais como o IRM e o Super-EBA. O pH, tempo de presa, solubilidade, radiopacidade, estabilidade dimensional foram avaliados pelas normas da ISO e ASTM, enquanto a capacidade seladora apical foi testada por infiltração do azul de metileno. Os resultados mostraram que o VERRM tem propriedades físico-químicas similares as do WMTA. Os valores de pH, obtidos no período imediato, 30 e 60 min, foram semelhantes (11,4-13), exceto para o WMTA em 60 min, que obteve o valor mais alto. Os tempos de presa inicial e final, em minutos, para o VERRM, GMTA e WMTA foram, respectivamente: 40 e 140; 70 e 175; 45 e 140, e a solubilidade, em porcentagem: 2,14; 1,28 e 0,97. A radiopacidade do VERRM (4,5 mm/Al) foi inferior ao GMTA (6,5 mm/Al) e WMTA (6,7 mm/Al), enquanto a estabilidade dimensional foi semelhante para os 3 materiais, que apresentaram leve expansão durante a presa. Nas retobturações com VERRM e WMTA ocorreu significativa infiltração de corante quando comparados ao GMTA, porém sem diferença entre eles.

Fridland, Rosado³⁸ (2005) avaliaram a quantidade de massa solúvel do MTA imerso em água por um longo período de tempo, determinaram a diferença de solubilidade entre espécimes com diferentes proporções de água/pó e verificaram o pH da água em contato com os espécimes. As proporções utilizadas foram de 0,28 e 0,33 g de água para 1 g de pó. Os espécimes foram imersos em água, periodicamente removidos para pesagem, e reimersos em água fresca de acordo com a ISO 6876. Os períodos de avaliação foram de 1, 2, 5, 9, 14, 21, 30, 50 e 78 dias (cumulativos do início do estudo). Após cada período, o pH da água foi medido. Os resultados foram expressos como solubilidade diária e solubilidade cumulativa. A projeção matemática da solubilidade cumulativa para tempo infinito mostrou que o MTA pode solubilizar 22,06% na proporção 0,28, e 31,095% na proporção 0,33 da massa dos espécimes em relação ao seu peso

inicial. A média de pH do MTA na proporção de 0,28 foi de 11,88 nas primeiras 24 h e manteve-se entre 11,57 e 11,60. Na proporção de 0,33 foi de 11,95 nas primeiras 24 h e manteve-se entre 11,65 e 11,72. Os autores afirmam que o hidróxido de cálcio, principal substância formada pela hidratação do MTA, é o responsável por sua solubilidade e pH elevado por longo período de tempo.

Islam et al.⁴⁷ (2006) compararam o pH, a radiopacidade, o tempo de presa, a solubilidade, a estabilidade dimensional e a resistência compressiva do ProRoot MTA cinza (PMTA) e branco (WMTA), cimento Portland branco (WP) e cinza (OP). Os valores de pH foram obtidos com um eletrodo com temperatura compensada, a cada 2 min a partir do início da manipulação, totalizando 60 min. Foi aplicado um teste estatístico para os valores obtidos nos períodos imediato, 30 e 60 min. Após a presa dos cimentos, a radiopacidade, solubilidade e estabilidade dimensional foram avaliadas pela norma ISO 6876:2001. Os tempos de presa inicial e final foram determinados pela norma ASTM C266-03. O tempo de presa e a solubilidade para cada material foram verificados por 4 vezes, e para radiopacidade 3. A resistência à compressão foi determinada empregando a norma BSI. Os resultados encontrados estão resumidos na Tabela 1, retirada do artigo. Quanto ao pH, variou entre 11,2 e 13,2. Os maiores valores de pH foram obtidos com os cimentos Portland.

Tabela 1 - Valores obtidos nos testes das propriedades físicas dos cimentos

Materiais	Radiopacidade (mm/Al)	Tempo de presa (minutos)		Solubilidade (%)	Estabilidade dimensional (%)	Resistência à compressão (MPa)	
		Inicial	Final			3 dias	28 dias
WMTA	6,74	40 ± 2,94*	140 ± 2,58	1,28 ± 0,02	0,30 ± 0,02	45,84 ± 1,32	86,02 ± 10,32
PMTA	6,47	70 ± 2,58	175 ± 2,55	0,97 ± 0,02	0,28 ± 0,09	50,43 ± 1,30	98,62 ± 5,74
WP	0,95	40 ± 2,16	135 ± 3,56	1,05 ± 0,02	0,47 ± 0,07	40,39 ± 2,86	48,53 ± 1,37
OP	0,93	70 ± 2,16	170 ± 2,58	1,06 ± 0,07	0,45 ± 0,09	48,06 ± 6,14	50,66 ± 1,37

*Valores significam desvio padrão.

Fonte - Islam et al.⁴⁷, 2006.

Danesh et al.²², em 2006, compararam a solubilidade, a micro-dureza e a radiopacidade do ProRoot MTA com 2 tipos de cimento Portland (CEM I e CEM II). O teste de solubilidade seguiu a ISO 6876, onde 12 anéis de aço com cada cimento foram imersos em água bidestilada por 1 min, 24 e 72 h, e 28 dias. O valor de massa perdida foi obtido pela diferença entre o peso inicial e final do conjunto anel/cimento. Para o teste de micro-dureza foram utilizados anéis para cada cimento e submetidos a uma força de 100 g por 30 s. A radiopacidade foi determinada segundo a ISO 6876 pela comparação da radiodensidade de 5 amostras de cada material com uma escala de alumínio de 1-9 mm. Após 28 dias, o ProRoot MTA obteve menor solubilidade (0,78%) quando comparado com o CEM I (31,38%) e CEM II (33,33%). Nos períodos superiores a 1 min, os dois cimentos Portland foram significativamente mais solúveis. A micro-dureza do ProRoot MTA foi significativamente maior (39,99 HV) quando comparada com a do CEM I (16,32 HV) e CEM II (13,51 HV). O ProRoot MTA também foi mais radiopaco (5,34mm/Al) que o CEM I (3,32mm/Al) e CEM II (2,52mm/Al), sendo CEM I significativamente mais radiopaco que o CEM II. Os autores concluíram que os dois tipos de cimento Portland são mais solúveis, possuem menores valores de micro-dureza e radiopacidade inferior ao ProRoot MTA. As diferenças encontradas nas propriedades dos materiais podem estar relacionadas com a composição química, tornando questionável a substituição do ProRoot MTA pelo cimento Portland.

2.2 Atividade antimicrobiana do MTA

A literatura tem mostrado que o MTA possui efeito bactericida ou bacteriostático somente para alguns tipos microbianos.

Em 1995, Torabinejad et al.¹⁰⁰ compararam o efeito antimicrobiano do amálgama de prata, óxido de zinco e eugenol, Super EBA e MTA, quando em mistura ainda fresca ou após 24 h da presa, sobre 9 bactérias facultativas: *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus species*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Escheria coli* B.; e 7 anaeróbias: *Prevotella buccae*, *Bacteroides fragilis*, *Prevotella intermédia*, *Prevotella melaninogênica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Fusobacterium necrophorum*. Os materiais foram colocados na superfície do meio de cultura e incubados por 24-48 h a 37 °C. O efeito antimicrobiano de cada material foi determinado pelo diâmetro dos halos de inibição, em

milímetros. Os materiais não demonstraram atividade antimicrobiana sobre as anaeróbias. No entanto, o MTA, em mistura fresca, apresentou algum efeito em 5 dos 9 tipos de bactérias facultativas estudadas. Os autores ressaltaram que o efeito antibacteriano do MTA está associado ao seu alto pH e liberação de substâncias difusíveis no meio de cultura.

Estrela et al.³² (2000) investigaram a capacidade antimicrobiana do MTA, cimento Portland, pasta de Ca(OH)_2 , Sealapex e Dycal. Quatro tipos de cepas bacterianas provenientes da American Type Culture Collection foram utilizadas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*. Um tipo de fungo também foi empregado neste estudo: a *Candida albicans* (USP-SP). Inicialmente foi realizado o teste de difusão e inibição em ágar, onde somente o Ca(OH)_2 promoveu halos de inibição de 6 a 9,5 mm. Os demais materiais promoveram apenas halos de difusão, com exceção do Dycal que não apresentou nenhum dos dois. Em seguida, por meio de espectrofotometria de fluorescência, a composição química do MTA e de 2 cimentos Portland também foi analisada. Os elementos químicos achados no MTA foram similares aos encontrados no cimento Portland, com exceção do bismuto presente somente no MTA. Apesar da semelhança, o cimento Portland pode conter impurezas que afetam sua cristalização e apresentar algum tipo de reação, dependendo também de onde foi extraído o mineral. Concluíram que a semelhante composição química entre MTA e cimento Portland justifica a atividade antimicrobiana encontrada.

A contaminação bacteriana e fúngica presente no MTA-Angelus (cinza e branco) e do cimento Portland de um saco recém-aberto e de outro aberto há 2 meses foi avaliada por Duarte et al.²⁸, em 2002. Os materiais foram colocados, assepticamente, em 3 mL de caldo BHI ágar e incubados a 37 °C por 24 h, e em 3 mL de caldo de Sabouraud, acrescido de cloranfenicol, e incubados a 25 °C por 72 h. Posteriormente, foi realizada a agitação e repique dos caldos em placas com meios específicos para o crescimento de Gram+, Gram-, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* e fungos. As placas para bactérias foram incubadas a 37 °C por 24 h e as para fungos foram mantidas a 25 °C por 15 dias. Os resultados mostraram não haver contaminação nos materiais testados.

No trabalho desenvolvido por Al-Nazhan, Al-Judai⁶ (2003), para avaliar a atividade antifúngica do MTA, amostras do material recém-manipulado e de 24 h pós-presa foram colocadas em placas de cultura tecidual contendo 24 poços. Sobre elas foi inoculado 2 mL de suspensão de *Candida albicans*, depois foram incubadas a 37 °C por 1 h, 1 e 3 dias. No final de cada período, alíquotas de 0,1 mL dos poços foram transferidas para tubos contendo 5 mL de caldo Sabouraud e incubadas a 37 °C por 7 dias. Diariamente, foi observada a presença ou não de turvamento do meio, representativo do crescimento do fungo. Os resultados mostraram que o MTA recém-manipulado foi eficaz, matando o fungo testado depois de um dia de contato. O MTA 24 h foi eficaz depois de 3 dias de incubação. Concluíram que ambas as formas do MTA foram efetivas contra a *Candida albicans*.

Subramanian et al.⁸⁹ (2003) compararam a capacidade antimicrobiana do ProRoot misturado com água destilada ou clorexidina a 0,12%, e também da clorexidina a 0,12%. Estes foram colocados em contato com o *Enterococcus faecalis* em placas com agar BHI. Após os períodos de incubação de 24, 48 e 72 h, os halos de inibição foram medidos. Os resultados mostraram que a mistura da clorexidina ao ProRoot melhorou significativamente o seu efeito sobre a bactéria. Porém, a clorexidina sozinha promoveu halos de inibição maiores do que a mistura.

Stowe et al.⁸⁸ (2004) misturaram o MTA com gluconato de clorexidina a 0,12% ou água estéril e compararam a capacidade antimicrobiana destas misturas. Os microrganismos utilizados foram: *Actinomyces odontolyticus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Uma suspensão estandardizada de cada microrganismo foi inoculada em 3 placas com agar, onde 2 poços de 5 mm de diâmetro foram realizados. Em cada placa, um poço foi preenchido com MTA misturado com clorexidina e o outro com MTA misturado com água estéril. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 a 48 h para ocorrer o crescimento bacteriano. Os halos de inibição foram medidos por meio de um programa de computador. Em todas as placas houve inibição do crescimento bacteriano. A média dos halos de inibição foi de 13,5 mm para o MTA/clorexidina e 12,1 mm para o MTA/água. O MTA/clorexidina mostrou halos de inibição significativamente maiores ($p < 0,0002$), exceto para a *Pseudomonas aeruginosa*, que

foram semelhantes ao MTA/água. Os autores concluíram que o gluconato de clorexidina a 0,12% aumentou a capacidade antimicrobiana do MTA.

A ação antifúngica de diferentes concentrações do MTA branco sobre *Candida albicans* foi avaliada por Al-Hezaimi et al.⁴, em 2005. O MTA foi preparado nas proporções de 50; 25; 12,5; 6,25; 5,125; 1,56 e 0,78 mg/mL, pela diluição do pó em 10 mL de ágar (Sabouraud) a 45 °C. Após a mistura, o MTA-ágar foi colocado em 348 placas de Petri, 11 para cada proporção, e esperado o tempo de presa. Cinco placas de ágar sem MTA serviram de controle positivo e 5 placas, sem o fungo, de controle negativo. Após inocular alíquotas de 10 µL de *Candida albicans* nas placas e incubá-las a 37 °C por 1, 24, 48, e 72 h, foi observada a presença ou não do crescimento de colônias do fungo. Houve uma correlação direta entre a proporção de MTA e a inibição do crescimento. Nas placas com a proporção de 50 mg/mL de MTA não houve crescimento fúngico em qualquer período. Já placas com proporção de 25 mg/mL mostraram atividade antifúngica somente após 1 e 24 h. Nas placas com baixas concentrações de MTA, houve crescimento de colônias em todos os períodos. Os autores afirmaram que o MTA branco, na proporção de 50 mg/mL, pode ser efetivo contra *Candida albicans* em períodos superiores a 3 dias, porém baixas concentrações de MTA não são efetivas.

Sipert et al.⁸³, em 2005, avaliaram a atividade antimicrobiana do Fill Canal, Sealapex, MTA, cimento de Portland e EndoRez sobre várias espécies de microrganismos empregando o método de difusão em ágar. Em placas de Petri (agar Müller-Hinton) foram realizados 5 poços em pontos equidistantes, nos quais foram injetados os materiais já manipulados. Em seguida, os microrganismos *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* foram semeados nas placas que foram incubadas a 37 °C por 24 h. Alíquotas de 10 mL de 0,05% gel de cloreto de trifeniltetrazolium foram adicionadas para otimização da medição dos halos de inibição. O Fill Canal, Sealapex, MTA e cimento Portland inibiram o crescimento de todos os microrganismos, porém os dois últimos não inibiram o crescimento da *Escherichia coli*. Já o EndoRez não apresentou atividade antimicrobiana. Não foi realizada análise estatística dos valores dos halos obtidos por causa da diferença de difusibilidade em ágar dos materiais.

Eldeniz et al.³⁰, em 2006, avaliaram a atividade antibacteriana dos seguintes materiais: amálgama, ProRoot MTA, IRM, Super Bond C&B, Geristore, Dyract e Clearfil APX com SE Bond ou Protect Bond. O teste de contato direto (DCT) com *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, e *Pseudomonas aeruginosa* foi empregado. Duas amostras de cada material foram preparadas: uma fresca (material recém-manipulado) e outra de 3 dias (material colocado em 100% de umidade a 37 °C por 3 dias). Dez microlitros das suspensões bacterianas foram colocados em contato direto com cada amostra dos materiais por 1 h a 37 °C; em seguida foi adicionado caldo BHI (245 µL) e, desta mistura foram transferidos 15 µL para novas placas contendo caldo fresco (215 µL). O crescimento bacteriano, representado pela densidade de turvamento do caldo, foi medido de hora em hora por meio de um espectrofotômetro durante 15 h. Nas amostras frescas de todos os materiais houve, a partir de 3 h, crescimento exponencial do *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e, a partir de 5 h, da *Pseudomonas aeruginosa*. As amostras de 3 dias do IRM e ProRoot MTA mostraram, em geral, maior atividade antibacteriana que os outros materiais: ambos inibiram completamente o crescimento da *Pseudomonas aeruginosa* e retardaram ou limitaram o crescimento do *Enterococcus faecalis*. O DCT, por ser quantitativo e virtualmente independente da solubilidade e difusão dos materiais, foi apropriado para a avaliação. Os autores concluíram que o IRM e o ProRoot MTA foram os mais potentes inibidores do crescimento bacteriano.

A ação antifúngica de diferentes concentrações do MTA branco e do MTA cinza sobre *Candida albicans* foi comparada por Al-Hezaimi et al.³, em 2006. Os MTAs foram misturados com água nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,125 mg/mL e colocados em tubos contendo meio Sabouraud. A mínima concentração inibitória sobre o fungo foi determinada empregando o teste de diluição em tubos nos períodos imediato, 1, 24, 48, 72 e 168 h (7 dias). Houve uma correlação direta entre a concentração de MTA e seu efeito antifúngico. No período imediato houve crescimento do fungo em todos os tubos de ambos os MTAs. Nos tubos com MTA cinza, nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,125 mg/mL, e com MTA branco, nas concentrações de 50 e 25 mg/mL, não houve crescimento nos outros períodos. Os tubos contendo MTA branco, nas concentrações de 12,5 mg/mL ou inferiores, mostraram crescimento da *Candida albicans* em todos os períodos. Os autores concluíram que ambos os MTAs, nas concentrações de 50 e 25

mg/mL, parecem ser efetivos contra o fungo por períodos superiores a uma semana. Nas demais concentrações o MTA cinza pode ser efetivo enquanto o branco não.

Al-Hezaimi et al.⁵ (2006) também avaliaram o efeito antibacteriano de diferentes concentrações do MTA branco e cinza sobre o *Enterococcus faecalis* e o *Streptococcus sanguis*. Os MTAs foram misturados com água nas proporções de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 e 1,56 mg/mL e colocados em tubos contendo meio Sabouraud. As mínimas concentrações inibitórias sobre as bactérias foram determinadas, empregando o teste de diluição em tubos, nos períodos imediato, 1, 24, 48 e 72 h. Houve uma correlação direta entre a concentração de MTA e seu efeito antibacteriano. No período imediato houve crescimento das bactérias em todos os tubos de ambos os MTAs. No grupo do *Enterococcus faecalis*, nos tubos com MTA cinza nas proporções de 50; 25 e 12,5 mg/mL, não houve crescimento bacteriano nos outros períodos. Já nos com MTA branco, houve crescimento em todas as proporções e períodos. Não houve diferença de crescimento bacteriano nos tubos com baixas concentrações de ambos os MTAs. No grupo do *Streptococcus sanguis*, nos tubos com MTA cinza nas proporções de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,12 mg/mL não houve crescimento bacteriano nos demais períodos, exceto para a proporção de 1,56 mg/mL com a qual houve crescimento em todos períodos. Nos tubos com MTA branco, nas proporções de 50; 25 e 12,5 mg/mL não houve crescimento bacteriano nos demais períodos. Os autores concluíram que a suscetibilidade das bactérias testadas aos MTAs é diferente. O MTA cinza requer menores concentrações para ter o mesmo efeito antibacteriano do MTA branco.

2.3 Cloreto de cálcio e seu efeito no cimento Portland

Aditivos são produtos empregados na elaboração de concretos, argamassas e caldas de cimento para modificar certas propriedades do material fresco ou endurecido, tornando-os mais fáceis de manusear e incrementando sua resistência diante das solicitações físico-químicas. São classificados segundo sua ação principal em três grupos: de ação física, química e físico-química.

Os aceleradores, aditivos de ação química cujo principal componente é o cloreto de cálcio (CaCl_2), visam diminuir o tempo de presa do cimento Portland e também melhorar suas propriedades físico-químicas. São indicados quando o concreto é solicitado em curto prazo: fundações, túneis, pavimentações, canalizações, chumbamentos, reparos urgentes, e outros. Eles

aceleram o início e o fim da pega do cimento, reduzem a água de amassamento e permitem ao concreto resistir, mesmo em baixas idades, às pressões hidrostáticas, evitando o carreamento da pasta de cimento por água corrente (Manual Técnico Vedacit⁶², 2003).

Para se entender melhor o comportamento do CaCl_2 é necessário conhecer a química do cimento Portland. O cimento Portland é composto basicamente por 55 a 60% de silicato tricálcio (C_3S), 10 a 15% de silicato bicálcico (C_2S), 10 a 12% de aluminato tricálcio (C_3A), 7 a 8% de aluminato ferrito tetracálcico [$\text{C}_4(\text{AF})$] e, em menor porcentagem (<12%), de $\text{Ca}(\text{A},\text{F})$, gesso, magnésio, óxido de cálcio, silicato de cálcio, aluminato de cálcio, e outros.

Os silicatos (C_3S e C_2S) são os principais responsáveis pelas características mecânicas do cimento, constituem 75% de sua massa e formam o gel tobermorite (o mais importante componente do aglomerante). Por este motivo, no estudo da hidratação do cimento, normalmente se substitui o complexo sistema água-cimento pelo sistema água-silicatos. Na reação com a água, os componentes ricos em óxido de cálcio (CaO) reagem e desenvolvem calor:

- $\text{C}_3\text{S} + \text{H}_2\text{O} = \text{gel de tobermorite} + \text{hidróxido de cálcio} = 120 \text{ cal/g.}$
- $\text{C}_2\text{S} + \text{H}_2\text{O} = \text{gel de tobermorite} + \text{hidróxido de cálcio} = 60 \text{ cal/g.}$
- $\text{C}_3\text{S} + \text{H}_2\text{O} + \text{gesso} = \text{parte do cimento hidratado} = 320 \text{ cal/g.}$
- $\text{C}_4(\text{AF}) + \text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{OH})_2 = \text{parte do cimento hidratado} = 100 \text{ cal/g.}$
- $\text{Mg} + \text{H}_2\text{O} = \text{Mg}(\text{OH})_2 = 200 \text{ cal/g.}$
- $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} = \text{Ca}(\text{OH})_2 = 275 \text{ cal/g.}$

Os hidrossilicatos (C_yH_x) têm forma de partículas fibrosas com dimensões de alguns micrometros e recobrem os grãos dos silicatos anidros. Com configuração semelhante a do mineral denominado tobermorite, o hidrossilicato é chamado de gel tobermorite. Durante a hidratação, os microcristais deste gel, como pequenos filamentos de feltro, surgem na superfície do cimento e provocam forças que determinam aglomeração e, conseqüente cristalização. Portanto, os microcristais aderem-se entre si e aos cristais do agregado, e depois de ocorrer um entrelaçamento, formam uma estrutura sólida: argamassa ou concreto.

A pega do cimento Portland depende fundamentalmente da hidratação dos aluminatos, principalmente do C_3A , e também do C_3S em menor escala. O gesso é adicionado durante a moagem do clínquer para controlar o início de pega, visto que retarda a hidratação dos aluminatos. Já o endurecimento da pasta depende exclusivamente da hidratação dos silicatos. A

matriz do gel hidratado ou gel de cimento formada apresenta uma estrutura porosa, constituída de poros de gel (0,001 a 0,01 μm) e poros capilares (0,1 a 10 μm). Os poros de gel absorvem moléculas de água pelas forças de atração de suas paredes internas e, depois da pasta endurecida, tornam-se impermeáveis. Os poros capilares, provenientes da evaporação da água que proporcionou trabalhabilidade à mistura, tornam o cimento permeável e reduzem sua resistência mecânica.

Para hidratar o cimento é preciso, teoricamente, 42% de seu peso em água, onde 23% é consumida nas reações de hidratação e 19% saturam os poros de gel. Acima desta porcentagem, praticamente toda água se constituirá em excesso, acarretando efeitos indesejáveis, devido à formação de muitos poros capilares. Esta é a justificativa para sempre se adotar a mínima proporção água/cimento possível ao se fazer um concreto (Manual Técnico Vedacit⁶², 2003).

Embora o mecanismo de ação do CaCl_2 ainda não esteja totalmente esclarecido, sabe-se que os aceleradores facilitam a dissolução da cal e da sílica nos silicatos, e da alumina nos aluminatos. O CaCl_2 penetra nos poros do cimento e, em uma série de reações exotérmicas, acelera fortemente a hidratação dos silicatos, especialmente do C_3S , fazendo com que se cristalizem mais rápido, resultando em diminuição (de até 50%) do tempo de presa inicial e final do cimento Portland (Popovics⁷⁰, 1979; Ramachandran⁷¹, 1984). Ele também pode alterar a resistência, composição química, área de superfície e as características dos poros, trazendo como vantagens o aumento da resistência à compressão e diminuição da permeabilidade (Ramachandran⁷¹, 1984). A proporção deste componente no cimento e o respectivo módulo de finura são diretamente proporcionais à velocidade de endurecimento.

2.3.1 Emprego do cloreto de cálcio na Odontologia

Na literatura, os primeiros estudos realizados avaliaram o efeito biológico e citotóxico do CaCl_2 .

Javelet et al.⁴⁹, em 1985, utilizaram o CaCl_2 na indução de apicificação em dentes de macacos. Compararam o efeito do CaCl_2 (pH=4,4) com o do hidróxido de cálcio (pH=11,8) sobre o processo de reparo. Após 3 meses, não houve formação de barreira mineralizada e foi observada inflamação crônica moderada. Em alguns espécimes, polimorfonucleares foram observados junto à substância. Aos 6 meses, poucos espécimes apresentaram formação de tecido

mineralizado, muitos deles com inflamação aguda e crônica moderada, e intensa atividade osteoclástica. Os melhores resultados foram obtidos com o hidróxido de cálcio, onde houve a formação de barreira de tecido mineralizado e mínima inflamação periapical. Parece que o pH foi determinante na indução da formação da barreira de tecido mineralizado (apicificação).

Abdullah et al.¹ (2002) com intuito de diminuir o tempo de presa do cimento Portland, adicionaram CaCl_2 a 10 e 15% ao material, e compararam as misturas com o cimento Portland comum, MTA e ionômero de vidro, quanto ao comportamento físico-químico e biológico. O CaCl_2 , em ambas as concentrações, diminuiu o tempo de presa e não alterou as formas dos cristais dos cimentos, vistos em MEV. No teste ELISA, os cimentos com CaCl_2 mostraram altos níveis de liberação de citocinas e osteocalcina, que se mantiveram elevados até 72 h. Para o MTA, os níveis de liberação se mantiveram em progressão até 48 h e depois foram reduzidos. Em cultura de células SaOS-2, por meio de MEV, foi observado significativo crescimento celular sobre a superfície dos cimentos, cobrindo-a totalmente, demonstrando biocompatibilidade. Isto sugere, segundo os autores, que a superfície destes materiais não é irritante e não afeta a integridade estrutural da célula, mantendo suas extensões citoplasmáticas, importante configuração para uma integração tridimensional com o tecido ósseo. Os autores relataram que houve a diminuição do tempo de presa, mas não o quantificaram.

Na Periodontia encontramos o uso do CaCl_2 nos protocolos de obtenção do Plasma Rico em Plaquetas (PRP). Para manutenção dos fatores de crescimento no local desejado, o PRP precisa estar na forma de gel, coagulado. A separação dos hemocomponentes somente é conseguida antes da formação do coágulo, por isto é utilizado um anticoagulante durante o processo de coleta. Entretanto, no momento da utilização clínica, a ação do anticoagulante precisa ser neutralizada e a coagulação induzida. O CaCl_2 a 10% neutraliza o efeito anticoagulante do citrato-fosfato-dextrose, garantindo 100% na determinação do tempo de coagulação (Leão, Magini⁵⁷, 2004).

Em 2005, o CaCl_2 foi utilizado por Úbeda et al.¹⁰⁷ com o intuito de favorecer a remineralização e a incorporação de flúor ao esmalte dentário. Segundo os autores a concentração de flúor nos dentes, durante o dia, depende mais da concentração de cálcio na placa dental que se

liga ao flúor, do que da concentração de flúor propriamente dita na solução. Assim, a concentração de flúor no esmalte dentário foi avaliada após o uso de dentifrício fluoretado, precedido ou não por bochecho com solução de CaCl_2 por 1 min. De acordo com o protocolo utilizado não houve variação significativa na incorporação de flúor ao esmalte após o uso de dentifrício fluoretado precedido pelo bochecho, talvez porque houve pouco tempo para as pequenas partículas de CaF_2 penetrarem nos poros do esmalte, não permitindo seu crescimento e agregação.

Seguindo a especificação C191-44 da ASTM, que emprega agulhas de Gillmore, Harrington⁴¹ (2005) comparou os tempos de presa inicial e final do cimento Portland tipo I puro, com os dele misturado com 10 e 15% de CaCl_2 e com os do IPANEX Rapid e dos Patch 928, um cimento Portland misturado com sílica cristalina. Comparou também a retenção de pinos de aço (ParaPost XP) obtida pelos cimentos, incluindo amostras com MTA e cimento de fosfato de zinco (ZnPO_4). Para isso, os pinos foram cimentados em raízes inclusas em blocos de resina acrílica, e depois submetidos a uma força constante de deslocamento, por meio de uma máquina de ensaio universal Instron, 72 h após a cimentação. Para o MTA e ZnPO_4 o teste também foi realizado após 28 dias. O tempo de presa inicial e final para o cimento Portland foi de 24 min e 4 h 31 min, quando misturado com 10% de CaCl_2 foi 7 e 46 min, com 15% de CaCl_2 foi 8 e 47 min, com IPANEX 30 s e 3 min, e para o Patch 928 foi de 1 h 6 min e 4 h, respectivamente. Quanto ao teste de deslocamento, os resultados mostraram que o MTA (243 ± 76 e 229 ± 71 N), o cimento Portland com 10% de CaCl_2 (215 ± 100 N) e o cimento Portland com 15% de CaCl_2 (150 ± 65 N) foram menos retentivos quando comparados ao ZnPO_4 (367 ± 147 e 318 ± 116 N). O MTA foi 28% menos retentivo que o ZnPO_4 . A autora concluiu que no geral, a adição do CaCl_2 diminuiu o tempo de presa do cimento Portland em mais de 50%, mas não aumentou a resistência ao deslocamento dos pinos.

Depois de constatada a diminuição do tempo de presa do MTA pelo acréscimo de 10% de CaCl_2 , em um estudo piloto, Bortoluzzi et al.¹⁴ (2006) realizaram um trabalho para avaliar a influência da substância na capacidade seladora do ProRoot MTA, MTA Branco e cimento Portland branco (WPC) em obturações retrógradas. Setenta raízes, de dentes extraídos de humanos, tiveram os canais radiculares instrumentados e obturados. Depois de seccionados os 2

mm apicais, foram confeccionadas cavidades retrógradas padronizadas. Em seguida, as raízes foram impermeabilizadas, exceto na superfície dentinária apicectomizada, e as cavidades preenchidas com os materiais, compondo 6 grupos de 10 raízes. As 10 raízes restantes foram usadas como controle positivo e negativo. Imediatamente após, as raízes foram imersas em solução de rodamina B a 0,2% e mantidas em estufa com umidade de 95% a 37 °C por 72 h. Passado esse período, foram lavadas e desgastadas até expor as retrobturações. A extensão de penetração do corante foi medida por meio de um microscópio óptico munido de ocular micrométrica, utilizando-se escores numéricos para sua quantificação: 0 = sem infiltração; 1 = infiltração até o primeiro terço da retrobturação; 2 = infiltração até o segundo terço da retrobturação; 3 = infiltração em toda extensão da retrobturação. Os valores dos escores obtidos foram analisados pelo teste Kruskal-Wallis, que mostrou diferença significativa entre os grupos. Pelo teste de Miller foi verificada diferença significativa entre os seguintes grupos: MTA Branco + CaCl₂ e WPC; MTA Branco e WPC + CaCl₂; WPC + CaCl₂ e WPC; WPC + CaCl₂ e ProRoot MTA. A média dos valores dos escores possibilitou agrupar os materiais em ordem crescente de infiltração: WPC + CaCl₂, MTA Branco + CaCl₂, ProRoot MTA + CaCl₂, MTA Branco, ProRoot MTA e WPC. Os MTAs misturados com o CaCl₂ apresentaram significativa menor infiltração quando comparados aos MTAs puros. Concluíram que a adição do CaCl₂ melhorou a capacidade seladora dos 3 MTAs. Além disso, os autores salientaram que quando misturados com o CaCl₂, os materiais tornaram-se mais fáceis de manipular, apresentaram maior brilho na placa e precisaram de menor quantidade de água na mistura.

Para ser indicado para a cirurgia parendodôntica, além da boa capacidade seladora, o MTA com CaCl₂ deve se destacar por outras propriedades físico-químicas. Por este motivo, em 2006, Bortoluzzi et al.¹³ avaliaram o pH e a liberação de íons cálcio do ProRoot MTA, MTA Branco e cimento Portland branco puros ou com 10% de CaCl₂ nos períodos imediato, 30 min, 1 e 24 h. Os materiais foram manipulados por 30 s em proporções previamente estabelecidas. Para a análise do pH e liberação de íons cálcio, tubos de polietileno foram preenchidos com os materiais e imersos em frascos com 10 mL de água deionizada; as leituras foram feitas com pHmetro e espectrofotômetro de absorção atômica, respectivamente. Na comparação entre os materiais puros e com CaCl₂, o teste *t* de Student mostrou que a presença da substância aumentou o pH no período imediato, porém nos demais períodos os pHs foram semelhantes. Quanto à

liberação de íons cálcio, os materiais com CaCl_2 liberaram significativamente mais do que os puros no período de 24 h. Concluíram que a adição da substância ao MTA melhorou as suas propriedades físico-químicas analisadas.

Com o propósito de diminuir o tempo de presa do MTA, Kogan et al.⁵⁴ (2006) o misturaram a diferentes aditivos. A proporção pó/aditivo e a resistência à compressão também foram avaliadas. Os aditivos utilizados foram: o soro fisiológico, lidocaína a 2%, gel de hipoclorito sódio a 3%, gel de gluconato de clorexidina, gel KY e CaCl_2 a 3 e 5%. O MTA misturado com água serviu de controle. O tempo de presa foi avaliado empregando a agulha de Vicat e a resistência à compressão empregando a máquina de ensaio universal Instron. Os ensaios foram baseados na especificação #57 da ANSI/ADA. Os melhores resultados foram obtidos pelo gel de hipoclorito de sódio e gel KY, que diminuíram o tempo de presa do MTA de 50 para 20 min. Com o CaCl_2 a 5% o tempo foi diminuído para 25 min, já com CaCl_2 a 3% o tempo de presa não foi afetado. O soro fisiológico e a lidocaína aumentaram o tempo para 90 e 120 min, respectivamente, e a mistura com clorexidina não tomou presa dentro de 4 h. O gel de hipoclorito de sódio melhorou a consistência e facilitou a manipulação do MTA, enquanto a mistura com as 2 porcentagens do CaCl_2 , com soro fisiológico e com lidocaína não modificou esta característica, ficando semelhante à mistura com água. Houve dificuldade de incorporar o pó de MTA ao gel KY, e com a clorexidina foi formada uma mistura muito pegajosa. A máxima força compressiva para fratura aplicada ao controle foi de 28,4 MPa. O gel de hipoclorito de sódio, clorexidina e ambas concentrações de CaCl_2 diminuíram significativamente a resistência à compressão do MTA. Com a lidocaína ($32,6 \pm 12,7$) e o soro fisiológico ($39,2 \pm 7,5$) ela foi aumentada. Os autores concluíram que, por demonstrar facilidade de manuseio e diminuição do tempo de presa, a combinação gel de hipoclorito de sódio e MTA pode ser uma opção viável nos casos de tratamento em sessão única onde a força aplicada sobre o material não seja crítica.

Juarez-Broon et al.⁵⁰ (2006) avaliaram a resposta dos tecidos periradiculares de dentes de cães após perfurações radiculares laterais seladas com ProRoot MTA, MTA-Angelus e cimento Portland branco puros ou misturados com 10% de CaCl_2 . Após 90 dias, os animais foram mortos e as peças processadas para análise microscópica. Os resultados mostraram neoformação de tecido mineralizado, fechando total ou parcialmente as perfurações, porém, com leve inflamação,

especialmente nos dentes onde houve extravasamento do material. O teste de Kruskall-Wallis demonstrou não haver diferença entre os materiais testados. Todos, com e sem CaCl_2 , mostraram boa tolerância tecidual, criando condições biológicas que favoreceram o reparo no local da perfuração, havendo neoformação de cimento e re-organização do ligamento periodontal.

Diante dos estudos encontrados na literatura específica, novas pesquisas devem ser realizadas com o objetivo de avaliar a influência dos aditivos em algumas propriedades físico-químicas e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco.

3 Proposição

Avaliar a influência do acréscimo de 10% de cloreto de cálcio (CaCl_2) no tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco com radiopacificador (óxido de bismuto).

4 Material e método

4.1 Material

- ProRoot MTA (PRO) ^{*};
- MTA Branco (MTA) ^{**};
- cimento Portland branco (CPB) ^{***};
- óxido de bismuto (Bi_2O_3) ^{****};
- cloreto de cálcio (CaCl_2) ^{*****};
- ProRoot MTA com 10% de CaCl_2 (PRO + CaCl_2);
- MTA Branco com 10% de CaCl_2 (MTA + CaCl_2);
- cimento Portland branco com 10% de CaCl_2 (CPB + CaCl_2);
- água bidestilada (H_2O) estéril como veículo.

4.2 Método

4.2.1 Tempo de presa, solubilidade, desintegração e pH

Para os testes de tempo de presa, solubilidade, desintegração e pH foram utilizadas as seguintes proporções e misturas dos materiais (Tabela 2):

Tabela 2 - Proporções e misturas dos materiais

Cimentos	Misturas
MTA (1,0 g)	Misturado com 0,26 mL de H_2O
MTA + CaCl_2	1 g de MTA com 0,1 g de CaCl_2 misturado com 0,18 mL de H_2O
CPB (0,8 g) + Bi_2O_3 (0,2 g)	Misturado com 0,26 mL de H_2O
CPB (0,8 g) + Bi_2O_3 (0,2 g) + CaCl_2	1 g de CPB com 0,1 g de CaCl_2 misturado com 0,18 mL de H_2O

* Dentsply, Tulsa Dental, Tulsa OK, USA.

** Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Paraná, Brasil.

*** Irajazinho, Votorantim Cimentos, São Paulo, SP, Brasil.

**** Seelze, Hannover, Alemanha.

***** Labsynth, Diadema, São Paulo, Brasil.

4.2.1.1 Tempo de presa

O experimento seguiu a especificação #57 para materiais obturadores endodônticos da ADA⁷ e a ASTM⁸ (C266-03).

Foram confeccionados 3 anéis de aço inoxidável para cada cimento, com diâmetro interno de 10 mm e espessura de 2 mm. Os anéis foram fixados com auxílio de cera utilidade sobre uma lâmina de vidro de 1 mm de espessura por 25 mm de largura e 75 mm de comprimento.

Os cimentos manipulados foram colocados no interior dos anéis metálicos, até que estes ficassem totalmente preenchidos. Passados 120 ± 10 segundos do início da mistura, o conjunto lâmina de vidro-anel foi colocado sobre uma placa de vidro de 10 x 20 mm por 10 mm e acondicionados em um recipiente plástico com boa vedação.

O conjunto foi mantido em estufa a 37 ± 1 °C num ambiente saturado de umidade. Decorridos 150 ± 10 segundos do início da mistura, com o conjunto fora da estufa, uma agulha de Gillmore, de $100 \pm 0,5$ g e ponta ativa de $2,0 \pm 0,1$ mm de diâmetro, foi colocada verticalmente sobre a superfície do material. Este procedimento foi repetido em intervalos de 60 segundos.

O tempo de presa inicial do cimento foi considerado como o tempo decorrido entre o início da mistura e o momento no qual as marcas da agulha deixaram de ser visíveis na superfície do cimento. Para o tempo de presa final foi utilizada uma agulha de Gillmore de $456 \pm 0,5$ g e ponta ativa de $1,0 \pm 0,1$ mm de diâmetro, empregada da mesma maneira que a anterior. O tempo de presa inicial e final de cada cimento foi obtido pela média aritmética das três repetições do teste para cada cimento.

Para comparar os tempos de presa dos cimentos com e sem o CaCl_2 foi empregado o teste "t" de Student.

4.2.1.2 Solubilidade e desintegração

Foram utilizados anéis de teflon, medindo 4 mm de espessura e 12 mm de diâmetro interno com parede de 2 mm (Bozeman et al.¹⁵, 2006). Em cada anel, foi realizada uma

perfuração com broca carbide nº 2 para passagem de um fio de nylon, que serviu para a suspensão das amostras. Os anéis ($n=6$) foram colocados sobre lâminas de vidro, de 1 mm de espessura, 25 mm de largura e 75 mm de comprimento, recobertas por uma tira de papel celofane e preenchidos com os cimentos recém-manipulados. Depois do preenchimento foi posicionada outra lâmina de vidro, também recoberta por uma tira de papel celofane, sobre elas. O conjunto foi pressionado manualmente, de modo que cada lâmina tocasse uniformemente em toda circunferência do anel. Em seguida, o conjunto foi levado à estufa a 37 ± 1 °C dentro de um recipiente saturado de umidade.

Decorrido um intervalo de tempo igual a três vezes o tempo de presa de cada material, verificado no teste anterior, as amostras foram removidas da estufa e após a remoção dos resíduos ou partículas soltas com uma lixa d'água 600 (3M, Brasil), foram pesadas (peso inicial do cimento hidratado = P_{H0}) em uma balança de precisão (AND modelo GR-202, Tokyo Japão). Em seguida, foram colocadas em um dessecador com sílica por 24 h e, posteriormente, foi realizada nova pesagem (peso inicial do cimento desidratado = P_{D0}).

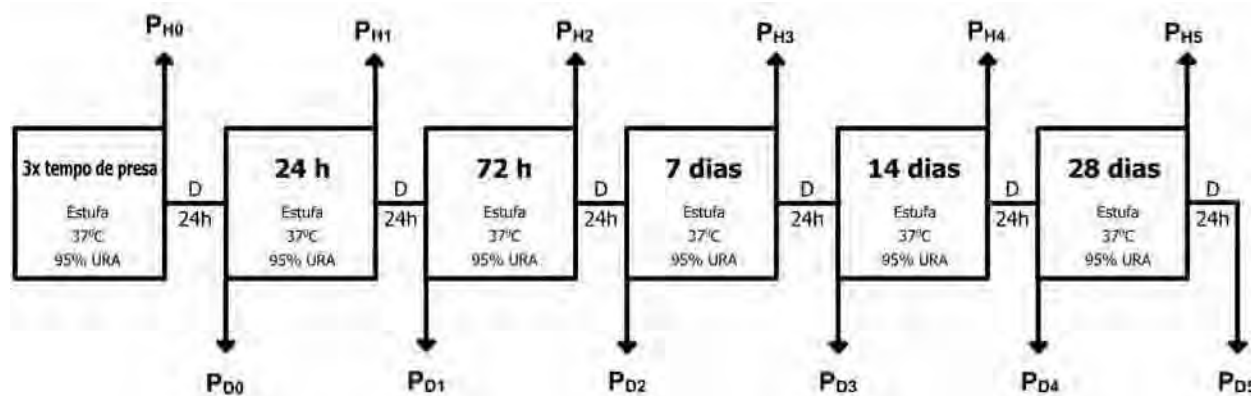
Realizada esta etapa, cada uma das amostras foi suspensa pelo fio de Nylon e colocadas no interior de um recipiente plástico contendo 50 mL de água destilada e deionizada (água MiliQ), sendo depois reconduzidas à estufa a 37 ± 1 °C. Tomou-se o cuidado de não permitir nenhum contato entre as amostras e a superfície interna do recipiente.

Passado o primeiro período em água (24 h), as amostras foram removidas dos recipientes e enxaguadas com água destilada e deionizada. O excesso de água foi removido com auxílio de papel absorvente e as amostras pesadas (P_{H1}). Logo após, voltaram para o dessecador por 24 h e novamente pesadas (P_{D1}) (Figura 1).

Depois as amostras foram colocadas em um novo recipiente plástico com nova quantidade de água MiliQ, dando início ao segundo período experimental. Assim, nos demais períodos experimentais, de 72 h e 7, 14 e 28 dias, os mesmos procedimentos foram realizados fornecendo os valores dos pesos das amostras (P_{H2} , P_{D2} , P_{H3} , P_{D3} , P_{H4} , P_{D4} , P_{H5} e P_{D5}), registrados em ficha especial (Anexo 1).

A solubilidade e desintegração dos cimentos corresponderam à perda de massa identificada pelo peso de cada amostra, expressa como percentual de peso perdido em comparação ao peso original.

Para análise estatística foi empregado o teste de Kruskal-Wallis para comparação entre os cimentos em cada período, e o de Miller para comparações dos cimentos com e sem CaCl_2 .



P_{H0} = peso inicial do cimento hidratado após 3x o tempo de presa; P_{D0} = peso inicial do cimento desidratado após 3x o tempo de presa mais 24 h em dessecador; P_{H1} = peso do cimento após 24 h de hidratação; P_{D1} = peso do cimento desidratado após 24 h de hidratação; P_{H2} = peso do cimento após 72 h de hidratação; P_{D2} = peso do cimento desidratado após 72 h de hidratação; P_{H3} = peso do cimento após 7 dias de hidratação; P_{D3} = peso do cimento desidratado após 7 dias de hidratação; P_{H4} = peso do cimento após 14 dias de hidratação; P_{D4} = peso do cimento desidratado após 14 dias de hidratação; P_{H5} = peso do cimento após 28 dias de hidratação; P_{D5} = peso do cimento desidratado após 28 dias de hidratação; URA = umidade relativa do ar; D = dessecador.

FIGURA 1 - Esquema da seqüência de pesagens das amostras realizadas nos períodos experimentais do teste de solubilidade e desintegração.

4.2.1.3 pH

O pH da água na qual as amostras ficaram imersas no teste anterior, foi medido imediatamente após o contato com elas, e depois da remoção das amostras nos vários períodos experimentais: 24 e 72h, e 7, 14 e 28 dias. As medições foram realizadas por meio de um de pHmetro (modelo PM 608, Analion, Ribeirão Preto, SP, Brasil) calibrado de acordo com uma solução tampão (pH 7,0) e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, mantida constante por ar condicionado. O pH da água deionizada utilizada foi determinado previamente à imersão das amostras, sendo igual a 7,4.

Os valores de pH foram tabulados e comparados pelo teste de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparações dos cimentos com e sem CaCl_2 .

4.2.2 Atividade antimicrobiana

Para o teste de avaliação da atividade antimicrobiana, foram utilizadas as seguintes proporções e misturas dos materiais (Tabela 3):

Tabela 3 - Proporções e misturas dos materiais

Cimentos	Misturas
PRO (1,0 g)	Misturado com 0,26 mL de H₂O
PRO + CaCl₂	1 g de MTA com 0,1 g de CaCl₂ misturado com 0,18 mL de H₂O
MTA (1,0 g)	Misturado com 0,26 mL de H₂O
MTA + CaCl₂	1 g de MTA com 0,1 g de CaCl₂ misturado com 0,18 mL de H₂O
CPB (0,8 g) + Bi₂O₃ (0,2 g)	Misturado com 0,26 mL de H₂O
CPB (0,8 g) + Bi₂O₃ (0,2 g) + CaCl₂	1 g de CPB com 0,1 g de CaCl₂ misturado com 0,18 mL de H₂O

Os materiais foram submetidos à avaliação da atividade antimicrobiana pela técnica da difusão em ágar, empregando o método do poço.

Na Tabela 4 estão apresentadas as cepas utilizadas, procedentes da American Type Culture Collection (ATCC).

Tabela 4 - Cepas utilizadas no teste da atividade antimicrobiana

<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 10541
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 13813
<i>Candida albicans</i>	ATCC 1023
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228

Os inóculos foram obtidos pela semeadura de cepas indicadoras em caldo MHB (Müeller Hinton Broth – Difco), de acordo com as características fisiológicas, e incubados a 37 ± 1 °C por 24 h.

Foram utilizadas placas com camada dupla, ou seja, com uma camada base e outra *seed* de meios adequados. A camada base foi obtida com 10 mL de meio de cultura esterilizado e resfriado até ± 50 °C em placas de Petri esterilizadas, com dimensões de 20 x 100 mm. Após solidificação, foram adicionados 5 mL da camada *seed*, obtida pela adição de inóculo na concentração final de 106 UFC/mL de meio de cultura resfriado até ± 50 °C (Leonardo et al.⁶⁰, 2000).

Concluída a solidificação da camada *seed*, os poços foram confeccionados pela remoção de ágar, com varetas de aço de 4 mm de diâmetro esterilizadas, a cerca de 15 mm das bordas das placas em pontos equidistantes. Foi confeccionado um poço para cada material.

Em seguida, os materiais foram manipulados e aplicados em cada um dos poços em quantidade suficiente para seu preenchimento (Leonardo et al.⁶⁰, 2000).

As placas foram mantidas a temperatura ambiente por 30 min, para pré-difusão dos materiais, e depois incubadas a 37 °C por 24 h. Os halos de inibição, formados ao redor de cada poço, foram mensurados com uma régua milimetrada auxiliada por um microscópio óptico (Olympus, modelo VT-II, Tokyo, Japão). O teste com cada material foi realizado em triplicata para cada bactéria.

As medidas dos diâmetros dos halos de inibição determinados por cada material foram submetidas à análise de variância ANOVA e, em seguida, submetidas ao teste estatístico de Tukey para a realização das comparações entre os cimentos com e sem CaCl₂.

5 Resultado

5.1 Tempo de presa

As médias dos tempos de presa inicial e final dos cimentos estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Médias e desvios padrão dos tempos de presa inicial e final (em min) dos cimentos avaliados

Cimentos	Inicial	d.p.	Final	d.p
MTA*	12	0,34	48	0,87
MTA + CaCl ₂ *	6	0,50	31	2,00
CPB**	38	0,23	190	2,64
CPB + CaCl ₂ **	19	0,23	60	0,65

(*, **) Diferenças estatísticas em função de $p < 0,05$.

O acréscimo do CaCl₂ proporcionou uma diminuição de 50% do tempo de presa inicial dos cimentos, já o tempo de presa final do MTA foi diminuído em 35,5% e o do CPB em 68,5%. O teste "t" de Student revelou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos de presa inicial e final dos cimentos com e sem CaCl₂.

5.2 Solubilidade e desintegração

Na água, onde as amostras dos cimentos ficaram imersas em cada período experimental, não foi observado partículas dos cimentos no fundo dos recipientes nem em suspensão. Também não foi observado o turvamento da água. Assim, concluímos que não houve desintegração dos cimentos. Entretanto, constatou-se por meio da pesagem das amostras, a solubilização dos cimentos e a absorção de água.

As medianas e postos médios da solubilidade dos cimentos hidratados estão expressos na Tabela 6 (Kruskal-Wallis).

Tabela 6 - Medianas e postos médios da solubilidade (%) dos cimentos hidratados em cada período. Valores negativos representam perda de peso

Períodos	24 h		72 h		7 dias		14 dias		28 dias	
Grupos	M	PM	M	PM	M	PM	M	PM	M	PM
MTA	-0,468	15,500	-0,659	15,500	-0,331	15,500	-0,721	15,500	-0,499	15,500
MTA+CaCl ₂	-0,593	9,333	3,462	18,666	3,875	19,000	3,991	19,166	4,112	19,500
CPB	-0,199	19,000	-4,696	6,333	-5,064	6,000	-5,863	6,000	-6,777	6,000
CPB+CaCl ₂	-0,878	6,166	-1,267	9,500	-1,920	9,500	-2,646	9,333	-2,809	9,000

M = mediana; PM = postos médios; p<0,05.

O MTA e o MTA+CaCl₂ apresentaram solubilização ao final de 24 h de hidratação. Nos demais períodos, o MTA continuou apresentando solubilização (perda de peso) enquanto que o MTA+CaCl₂, ganhou peso. O teste de Miller demonstrou não haver diferença estatística significativa entre os cimentos (Tabela 8).

O CPB e o CPB+CaCl₂ apresentaram solubilização em todos os períodos experimentais avaliados. O CPB apresentou os maiores valores de solubilização. No período de 24 h houve diferença estatística significativa entre eles (Tabela 8).

As medianas e postos médios da solubilidade dos cimentos desidratados estão expressos na Tabela 7 (Kruskal-Wallis).

Tabela 7 - Medianas e postos médios da solubilidade (%) dos cimentos sem umidade em cada período. Valores negativos representam perda de peso

Períodos	24 h		72 h		7 dias		14 dias		28 dias	
Grupos	M	PM	M	PM	M	PM	M	PM	M	PM
MTA	0,330	21,500	0,231	15,500	-0,209	15,500	-1,011	15,500	-0,824	15,500
MTA+CaCl ₂	-0,961	9,500	4,445	19,00	4,286	20,000	4,648	20,166	5,123	20,166
CPB	0,000	15,500	-5,865	6,000	-7,217	6,000	-8,329	6,000	-10,460	5,833
CPB+CaCl ₂	-2,184	3,500	-3,147	9,500	-4,427	8,500	-5,787	8,333	-7,877	8,500

M = mediana; PM = postos médios; p<0,05.

Pode-se observar que no período de 24 h, o MTA+CaCl₂ apresentou solubilização e o MTA ganhou peso (Tabela 7), havendo diferença estatística significativa, neste período, entre eles (Tabela 8). Nos demais períodos o MTA+CaCl₂ ganhou peso.

O MTA também ganhou peso no período de 72 h, porém apresentou solubilização (perda de peso) nos demais períodos.

O peso de CPB não foi alterado em 24 h e o CPB+CaCl₂ apresentou solubilização neste período. Nos demais períodos ambos apresentaram solubilização (Tabela 7), não havendo diferença estatística significativa entre eles (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparações entre os cimentos com e sem CaCl₂ nos períodos onde houve diferença estatística significativa

Comparações	Condição das amostras	Períodos	Diferença	Interpretação
CPB X CPB + CaCl ₂	Hidratados	24 h	12,833	Significante
CPB X CPB + CaCl ₂	Desidratados	24 h	12,000	Significante
MTA X MTA + CaCl ₂	Desidratados	24 h	12,000	Significante

Diferenças estatísticas em função de $p < 0,05$, com valor crítico de 10,488.

5.3 pH

Os valores médios de pH e os desvios padrão encontrados para os cimentos, em cada período, estão expressos na Tabela 9 (Análise de variância ANOVA). O teste de Tukey, que comparou os valores de pH da água em contato com os cimentos com e sem CaCl₂, foi realizado por períodos isoladamente, devido a troca das soluções (Tabela 10).

Tabela 9 - Médias e desvios padrão do pH da água onde estavam imersos os cimentos

Grupos	Imediato		24 h		72 h		7 dias		14 dias		28 dias	
	Média	d.p.	Média	d.p.	Média	d.p.	Média	d.p.	Média	d.p.	Média	d.p.
MTA	9,77	0,18	11,07	0,02	10,51	0,17	9,18	0,44	8,13	0,02	7,91	0,12
MTA + CaCl ₂	10,06	0,13	11,29	0,09	10,82	0,21	8,89	0,09	8,05	0,22	7,85	0,13
CPB	9,66	0,22	11,14	0,04	11,31	0,04	9,99	0,34	8,10	0,26	8,44	0,86
CPB + CaCl ₂	10,15	0,09	11,40	0,05	11,40	0,01	9,92	0,65	8,05	0,74	7,79	0,21

d.p. = desvio padrão.

Tabela 10 - Comparações dos valores de pH da água em contato com os cimentos com e sem CaCl_2 nos períodos experimentais

Comparações	Períodos	Diferença	Valor crítico	Interpretação
MTA X MTA+ CaCl_2	imediato	-0,288	0,268	Significante
CPB+ CaCl_2 X CPB	imediato	0,493	0,268	Significante
MTA X MTA+ CaCl_2	24 h	-0,223	0,099	Significante
CPB+ CaCl_2 X CPB	24 h	0,261	0,099	Significante
MTA X MTA+ CaCl_2	72 h	-0,316	0,230	Significante
CPB X CPB+ CaCl_2	72 h	-0,090	0,230	Não significativa
MTA X MTA+ CaCl_2	7 dias	0,296	0,699	Não significativa
CPB X CPB+ CaCl_2	7 dias	0,071	0,699	Não significativa
MTA X MTA+ CaCl_2	14 dias	0,085	0,661	Não significativa
CPB X CPB+ CaCl_2	14 dias	0,051	0,661	Não significativa
MTA X MTA+ CaCl_2	28 dias	0,058	0,732	Não significativa
CPB X CPB+ CaCl_2	28 dias	0,648	0,732	Não significativa

Diferenças estatísticas em função de $p < 0,05$.

Observa-se na Tabela 9, que até 72 h, a água onde estavam imersas as amostras de MTA+ CaCl_2 apresentou maiores valores de pH do que a do MTA, sendo esta diferença estatisticamente significativa (Tabela 10). Nos demais períodos os valores de pH de ambos foram diminuindo, mas mantiveram-se elevados (Tabela 9 e Figura 2). Não houve diferença estatística significativa entre eles nos demais períodos (Tabela 10).

No período imediato e de 24 h, a água em contato com as amostras de CPB+ CaCl_2 apresentou maiores valores de pH do que a do CPB, havendo diferença estatística significativa entre eles. Nos outros períodos os valores de pH diminuíram para ambos, mas mantiveram-se elevados (Tabela 9 e Figura 2), não havendo diferença estatística significativa entre eles (Tabela 10).

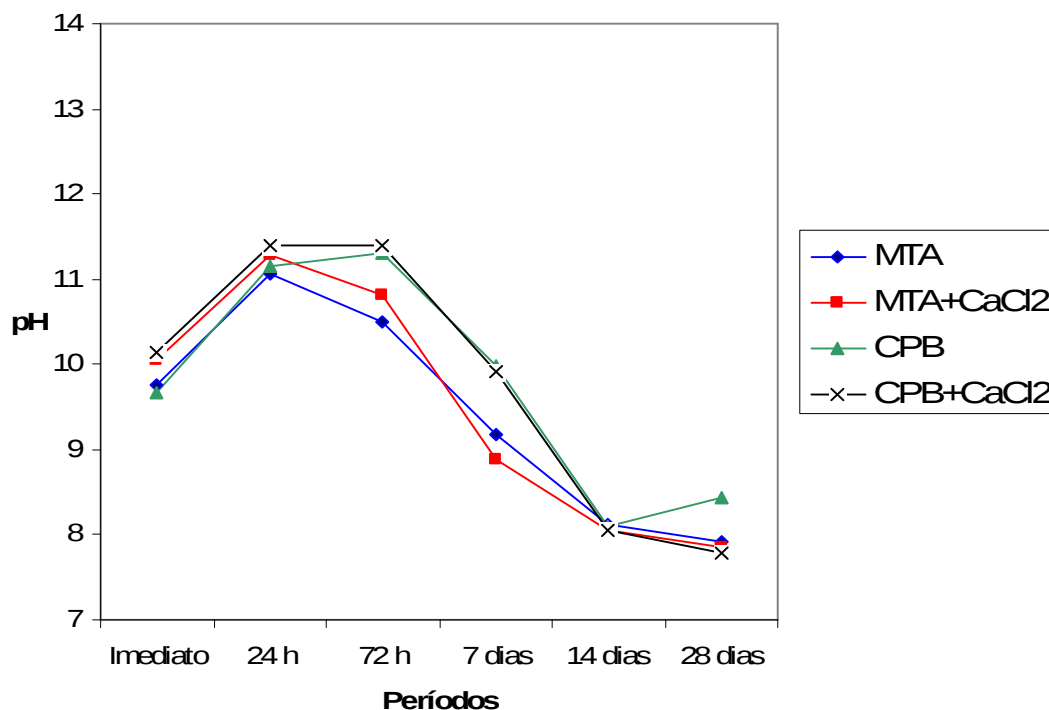


FIGURA 2 - Gráfico representativo da variação das médias do pH da água em contato com os cimentos com e sem CaCl₂ nos períodos experimentais.

5.4 Atividade antimicrobiana

A Tabela 11 mostra a média dos halos de inibição determinados pelos diferentes materiais.

Tabela 11 - Microrganismos utilizados e média dos halos de inibição (em mm) dos grupos

Grupos Microrg.	PRO	d.p.	PRO+CaCl ₂	d.p.	MTA	d.p.	MTA+CaCl ₂	d.p.	CPB	d.p.	CPB+CaCl ₂	d.p.
<i>E. coli</i>	14,33	2,88	10,33	0,57	15,0	1,00	10,66	0,57	12,83	1,60	11,33	1,15
<i>P. aeruginosa</i>	11,33	0,57	12,0	1,00	12,33	0,57	14,33	0,57	11,33	0,57	12,66	0,57
<i>S. aureus</i>	13,33	0,57	16,0	1,00	14,0	0,00	15,33	0,57	13,0	1,00	16,0	1,00
<i>E. faecalis</i>	9,0	0,00	11,5	0,00	8,0	0,00	11,5	0,86	12,0	5,19	11,0	0,50
<i>S. mutans</i>	21,0	0,00	26,5	0,50	19,5	1,50	25,0	1,00	16,0	6,08	27,5	0,50
<i>C. albicans</i>	22,0	0,86	25,5	0,50	20,0	1,00	24,5	0,50	20,0	0,00	27,5	0,50
<i>S. epidermidis</i>	11,33	0,57	12,16	1,04	10,0	0,86	11,83	0,28	10,66	0,28	11,66	0,57

d.p.= desvio padrão.

As medidas dos diâmetros dos halos de inibição determinados por cada material foram submetidos à análise de variância ANOVA e, em seguida, submetidos ao teste estatístico de Tukey para a realização das comparações dos cimentos com e sem CaCl_2 ($p < 0,05$).

De uma forma geral todos os cimentos com CaCl_2 apresentaram os maiores halos de inibição. Destacou-se a inibição do *S. mutans* e da *C. albicans* por todos os materiais.

O CaCl_2 adicionado ao PRO aumentou seu halo de inibição sobre todos microrganismos, exceto sobre a *E. coli*. O CaCl_2 exerceu o mesmo efeito sobre o MTA.

O CaCl_2 não aumentou o halo de inibição do CPB sobre o *E. faecalis* e *E. coli*. CPB+ CaCl_2 apresentou maiores halos inibição do que o CPB sobre os outros microrganismos, principalmente sobre o *S. mutans* e a *C. albicans*.

Apesar das discrepâncias das medidas dos halos apresentados na Tabela 11, não houve diferença estatística significativa entre os cimentos com e sem CaCl_2 sobre cada microrganismo (Tabela 12).

Tabela 12 - Comparações das medidas dos diâmetros dos halos determinados pelos cimentos com e sem CaCl_2 sobre cada microrganismo

Comparações	Diferença	Interpretação
MTA. <i>C. albicans</i> X MTA+ CaCl_2 . <i>C. albicans</i>	-4.5000000	Não significativa
MTA. <i>E. coli</i> X MTA + CaCl_2 . <i>E. coli</i>	4.3333333	Não significativa
MTA. <i>E. faecalis</i> X MTA+ CaCl_2 . <i>E. faecalis</i>	-3.5000000	Não significativa
MTA. <i>P. aeruginosa</i> X MTA + CaCl_2 . <i>P. aeruginosa</i>	-2.0000000	Não significativa
MTA. <i>S. aureus</i> X MTA+ CaCl_2 . <i>S. aureus</i>	-1.3333333	Não significativa
MTA. <i>S. epidermidis</i> X MTA+ CaCl_2 . <i>S. epidermidis</i>	-1.8333333	Não significativa
MTA. <i>S. mutans</i> X MTA + CaCl_2 . <i>S. mutans</i>	-5.5000000	Não significativa
CPB. <i>C. albicans</i> X CPB+ CaCl_2 . <i>C. albicans</i>	-7.5000000	Não significativa
CPB. <i>E. coli</i> X CPB+ CaCl_2 . <i>E. coli</i>	1.5000000	Não significativa
CPB. <i>E. faecalis</i> X CPB+ CaCl_2 . <i>E. faecalis</i>	1.0000000	Não significativa
CPB. <i>P. aeruginosa</i> X CPB+ CaCl_2 . <i>P. aeruginosa</i>	-1.3333333	Não significativa
CPB. <i>S. aureus</i> X CPB+ CaCl_2 . <i>S. aureus</i>	-3.0000000	Não significativa
CPB. <i>S. epidermidis</i> X CPB+ CaCl_2 . <i>S. epidermidis</i>	-1.0000000	Não significativa
CPB. <i>S. mutans</i> X PRO+ CaCl_2 . <i>S. mutans</i>	-11.5000000	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>C. albicans</i> X PRO. <i>C. albicans</i>	3.5000000	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>E. coli</i> X PRO. <i>E. coli</i>	-4.0000000	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>E. faecalis</i> X PRO. <i>E. faecalis</i>	2.5000000	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>P. aeruginosa</i> X PRO. <i>P. aeruginosa</i>	0.6666667	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>S. aureus</i> X PRO. <i>S. aureus</i>	2.6666667	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>S. epidermidis</i> X PRO. <i>S. epidermidis</i>	0.8333333	Não significativa
PRO+ CaCl_2 . <i>S. mutans</i> X PRO. <i>S. mutans</i>	5.5000000	Não significativa

Diferenças estatísticas em função de $p < 0,05$, com valor crítico de 12,383.

6 Discussão

Como já salientado, o material retroobturador deve possuir boas propriedades físico-químicas e biológicas (Gartner, Dorn⁴⁰, 1992). Além disso, é interessante que o material tenha atividade antimicrobiana (Torabinejad et al.¹⁰⁰, 1995) para atuar sobre bactérias remanescentes no interior do canal, túbulos dentinários e na superfície apical da raiz.

O MTA tem sido intensamente estudado desde o seu desenvolvimento, e tanto os trabalhos experimentais como os clínicos mostraram que ele apresenta muito das propriedades desejáveis de um material retroobturador ideal (Torabinejad et al.⁹⁹, 1995, Kim, Kratchman⁵³, 2006). Assim, é o material de escolha para a obturação retrógrada e para o selamento de perfurações. Entretanto, apresenta inconvenientes, e na tentativa de solucioná-los o CaCl_2 foi acrescentado (Kogan et al.⁵⁴, 2006, Bortoluzzi et al.¹⁴, 2006; Bortoluzzi et al.¹³, 2006). Neste estudo avaliou-se a influência do CaCl_2 sobre o tempo de presa, solubilidade, desintegração, pH e atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland branco.

Devido o CPB não possuir radiopacificador (Estrela et al.³², 2000), foi acrescentado a ele o óxido de bismuto, em 20% de seu peso, mesma porcentagem encontrada no MTA.

Para definir a proporção pó/líquido das misturas (com ou sem CaCl_2), foram realizadas manipulações com diferentes quantidades de água, empregando uma micropipeta. Foram escolhidas as mínimas proporções que conferiram aos cimentos uma consistência adequada, de fácil inserção em cavidades. Assim, para os cimentos sem o CaCl_2 foi utilizada a proporção de 1 g /0,26 mL e para os cimentos com CaCl_2 a de 1,1 g/0,18 mL.

Com o acréscimo do CaCl_2 , menor quantidade de água foi necessária para a mistura, provavelmente devido a sua ação sobre a hidratação dos silicatos (Ramachandran⁷¹, 1984). Outra possível explicação, é que o CaCl_2 por ser um composto higroscópico, pode ter absorvido mais água do meio ambiente durante a manipulação do cimento.

6.1 Tempo de presa, solubilidade, desintegração e pH

O teste do tempo de presa inicial seguiu a especificação #57 da ADA⁷ e o tempo de presa final a ASTM⁸ (C266-03), métodos também empregados em outros trabalhos (Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et al.⁴⁷, 2006).

A literatura apresenta tempos de presa inicial e final para o ProRoot MTA branco de 45 e 140 min (Chng et al.¹⁹, 2005), e de 40 e 140 min (Islam et al.⁴⁷, 2006), diferentes dos encontrados neste estudo para o MTA Branco (12 e 48 min). Esta grande diferença pode estar relacionada com a ausência do sulfato de cálcio (gesso) na composição do MTA Branco. Essa substância é utilizada para retardar o tempo de presa do cimento Portland, e constitui 5% da fórmula do ProRoot MTA. O cimento Portland branco (CPB) tomou presa inicial em 38 min e final em 190 min, resultados semelhantes aos encontrados por Islam et al.⁴⁷ (40 e 135 min), apesar de utilizarem uma marca diferente de cimento.

Pesquisas mostram tempos de presa inicial para o ProRoot MTA cinza de 50 (Kogan et al.⁵⁴, 2006) e 70 min (Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et al.⁴⁷, 2006) e tempos de presa final de 156 (Deal et al.²³, 2002), 165 (Torabinejad et al.⁹⁹, 1995) e 175 min (Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et al.⁴⁷, 2006). Já para o cimento Portland cinza tempos de presa inicial de 24 (Harrington⁴¹, 2005) e 70 min (Islam et al.⁴⁷, 2006) e tempos de presa final de 159 (Deal et al.²³, 2002), 170 (Islam et al.⁴⁷, 2006) e 271 min (Harrington⁴¹, 2005).

No presente trabalho foram utilizados cimentos de marcas diferentes dos outros estudos, por isto, os resultados não podem ser comparados diretamente. Além da composição química, variações dos pesos das agulhas empregadas podem gerar discrepâncias nos resultados.

O acréscimo do CaCl_2 proporcionou uma diminuição dos tempos de presa inicial e final do MTA e CPB, havendo diferença estatística significativa. O tempo de presa inicial foi diminuído em 50% para ambos os cimentos, já o tempo de presa final do MTA foi diminuído em 35,5% e o do CPB em 68,5%. Harrington⁴¹ acrescentou 10% e 15% de CaCl_2 ao cimento Portland, e encontrou diminuição acima de 50% tanto do tempo de presa inicial quanto do final. Kogan et al.⁵⁴ empregaram o CaCl_2 a 3% e a 5% como veículo para o MTA, a primeira concentração não diminuiu o tempo de presa, mas a segunda o diminuiu em 50%. Neste estudo o CaCl_2 foi acrescentado ao pó não ao líquido, e houve considerável diminuição dos tempos de presa. Entretanto, a porcentagem ideal de CaCl_2 no MTA ainda é desconhecida, sendo necessário mais pesquisas.

O teste de solubilidade e desintegração também seguiu a ADA⁷, porém com algumas modificações.

Embora seja recomendado anéis de aço com 20 mm de diâmetro interno e 1,5 mm de altura para confecção das amostras, utilizamos anéis de teflon com 12 mm de diâmetro interno e

4 mm de altura, seguindo a metodologia sugerida por Bozeman et al.¹⁵ (2006), com a intenção de diminuir o volume de material e aumentar sua retenção dentro do anel.

A solubilidade consiste na capacidade que tem uma substância de se dissolver em outra, e é expressa pela concentração da solução saturada da primeira na segunda. Desintegração é o ato ou efeito de desintegrar-se, separar de um todo.

A solubilidade está diretamente relacionada à dissociação dos componentes do material e a conseqüente dissolução dos mesmos no líquido circundante. Por este motivo, o tamanho e a forma das amostras são importantes, pois quanto maior a área de contato entre material e líquido maior será a possibilidade de dissolução, acarretando maior solubilidade. Por outro lado, a quantificação da solubilidade é realizada em função da diferença do peso da amostra antes e após o período de imersão, independentemente do tamanho da amostra. Portanto, deve-se ter cuidado ao comparar os estudos que utilizaram amostras de dimensões diferentes (Fridland, Rosado³⁷, 2003; Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et al.⁴⁷, 2006; Danesh et al.²², 2006).

Na solubilidade não existe partícula em suspensão (o solvente permanece límpido), enquanto que na desintegração existe a liberação de partículas do corpo de prova, que ficam em suspensão (o solvente torna-se turvo). Como se deseja obter um cimento obturador que sofra o menos possível tanto solubilidade quanto desintegração, a especificação #57 da ADA⁷ abrangeu em um só teste as duas situações, sendo aceitáveis valores de solubilidade menores ou iguais a 3%. Vale ressaltar novamente que as dimensões recomendadas demandam um volume de material, que acaba muitas vezes, por dificultar, até mesmo, por razões econômicas, a realização desse tipo de teste.

Foram também utilizados períodos experimentais mais longos do que o recomendado pela ADA⁷, de 24 e 72 h, 7, 14 e 28 dias, baseado nos trabalhos de Fridland, Rosado³⁸ (2005) e Danesh et al.²² (2006), permitindo observar o comportamento dos materiais ao longo do tempo.

Além das possíveis alterações devido às dimensões das amostras e períodos experimentais, o método recomendado pela ADA⁷ apresenta uma limitação, de iniciar o teste somente após a presa final dos materiais. Sabe-se que, os materiais, principalmente os hidrofílicos, podem ter algumas de suas características alteradas em função da umidade e do meio (Lee et al.⁵⁹, 2004) e isto acontece durante uma cirurgia, onde os fluidos teciduais interagem com o material antes de sua presa. Provavelmente os índices de solubilização que ocorrem clinicamente difiram dos obtidos nas condições laboratoriais.

A pesagem das amostras antes de serem colocadas no dessecador forneceu o valor do peso da água absorvida (P_{H0} , P_{H1} , P_{H2} , P_{H3} , P_{H4} e P_{H5}), e assim possibilitou avaliar a capacidade absorvente dos cimentos. Na verdade, dois processos competitivos tomam lugar, a absorção de água pelos poros dos cimentos e a dissolução.

Os resultados de solubilidade deste estudo mostram que o MTA+CaCl₂ absorveu água e não perdeu peso com o passar do tempo, exceto no período de 24 h. O MTA tanto hidratado quanto desidratado perdeu peso, mas com valores aceitáveis pela ADA⁷. O CPB foi o que apresentou maior solubilidade, e em relação direta com o tempo de imersão das amostras: quanto maior foi o período maior foi a perda de peso. Entretanto, com o acréscimo do CaCl₂ a solubilidade do CPB diminuiu, exceto em 24 h. Tanto o CPB quanto o CPB+CaCl₂ não se enquadram dentro da recomendação da ADA⁷.

Na literatura há relatos da realização do teste de solubilidade somente para o ProRoot MTA cinza. Deste modo, os resultados do presente estudo não podem ser comparados diretamente a nenhum outro trabalho. O MTA hidratado apresentou valores de solubilidade entre 0,33 a 0,72% e desidratado entre 0,20 a 1,01%. Resultados semelhantes foram encontrados para o ProRoot MTA cinza (Islam et al.⁴⁷, 2006).

Além das normas indicarem a imersão dos materiais somente após a presa, fato que não ocorre nas condições clínicas, existe o risco de falsos resultados devido à variação de peso do MTA nos ensaios laboratoriais (Fridland, Rosado³⁷, 2003). O MTA recém manipulado (hidratado), em temperatura normal de laboratório, perde peso por evaporação de água, e quando desidratado, em estufa ou dessecador, se exposto ao ar por longo período de tempo ganha peso, absorvendo água do meio. Isto pode camuflar índices maiores de solubilidade. Fridland, Rosado³⁷ utilizaram um forno a 105 °C para remoção da umidade. No presente estudo foi utilizado um dessecador com sílica, onde as amostras permaneceram por 24 h, procedimento recomendado pela ADA⁷. As pesagens das amostras foram feitas individualmente e de forma rápida, evitando a exposição ao meio por mais de 20 segundos.

Conjuntamente com o teste anterior foi determinado o pH das soluções onde as amostras permaneceram imersas.

O pH pode ser determinado tanto in vivo (Tronstad et al.¹⁰⁵, 1981; Estrela, Pesce³¹, 1996) quanto in vitro (Anthony et al.¹⁰, 1982; Torabinejad et al.⁹⁹, 1995; Deal et al.²³, 2002; Duarte et al.²⁷, 2003; Duarte et al.²⁶, 2004; Santos et al.⁷⁷, 2005; Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et

al.⁴⁷, 2006). Os estudos que avaliam o pH *in vivo*, apesar de fornecerem dados mais próximos da realidade, envolvem aspectos éticos e dificuldades de execução.

Vários métodos foram descritos para a determinação do pH *in vitro*. Neste estudo os materiais foram acondicionados em anéis de teflon (Bozeman et al.¹⁵, 2006), entretanto, encontramos trabalhos que utilizaram tubos de polietileno (Duarte et al.²⁷, 2003; Duarte et al.²⁶, 2004; Santos et al.⁷⁷, 2005; Bortoluzzi et al.¹³, 2006) e outros que optaram por colocar o cimento, recém manipulado, diretamente na solução (Torabinejad et al.⁹⁹, 1995). Esta forma de imersão direta, onde o material é inteiramente dissolvido na solução, acaba resultando em valores de pH bem acima dos que realmente podem ser encontrados em clínica. A confecção de amostras, proposta por Tagger et al.⁹⁰, em 1988, também apresenta uma desvantagem, são imersas na solução somente após a presa final dos cimentos, não permitindo a análise do pH do cimento recém manipulado.

Devido à variação da área de contato dos materiais com o líquido nas diversas pesquisas, as comparações entre os resultados podem demonstrar divergências.

Outro método é a determinação do pH diretamente na massa do cimento por meio de microeletrodos (Deal et al.²³, 2002; Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et al.⁴⁷, 2006), apesar de ser um método preciso, não fornece valores de pH pós-presa dos materiais, ou seja, não permite avaliações a longo prazo.

Em cada período experimental, as amostras foram trocadas de recipiente, sendo imersas em uma nova solução (Duarte et al.²⁷, 2003; Santos et al.⁷⁷, 2005; Bortoluzzi et al.¹³, 2006). Este procedimento não é uma unanimidade entre os autores (Anthony et al.¹⁰, 1982; Torabinejad et al.⁹⁹, 1995; Tamburic et al.⁹², 1993; Duarte et al.²³, 2003; Ferreira et al.³⁶, 2004; Duarte et al.²⁶, 2004; Santos et al.⁷⁷, 2005; Bortoluzzi et al.¹³, 2006). Quando a solução não é renovada, haverá sempre um aumento dos valores de pH até chegar a uma saturação ou regime de equilíbrio e, nesta condição, o material não liberará mais íons mesmo tendo potencial para tal. Quando é renovada, há a possibilidade de determinar em que período ocorreu maior liberação de íons hidroxila.

Neste estudo, tanto os cimentos puros quanto os com CaCl_2 apresentaram valores elevados de pH nos períodos analisados. Torabinejad et al.⁹⁹ encontraram também valores elevados para o ProRoot MTA cinza, de 10,2 (recém preparado) a 12,5 (após 3 h), porém realizaram a imersão direta do cimento na solução. Outros autores também encontraram valores

de pH semelhantes (Deal et al.²³, 2002; Chng et al.¹⁹, 2005; Islam et al.⁴⁷, 2006), contudo, determinaram o pH por meio de micro-eletrodos no interior da massa do cimento durante seu endurecimento. Já Duarte et al.²⁷ encontraram baixos valores de pH (aproximadamente 9,5) que se manteve com pouca variação até 7 dias. Os autores utilizaram tubos de polietileno para acondicionar os materiais, o que diminuiu a área de contato do material com o líquido, sendo provavelmente a causa da diferença dos resultados.

Neste estudo, os maiores valores de pH foram nos períodos imediato, 24 e 72 h para todos os cimentos, mais diminuiu nos demais períodos. Santos et al.⁷⁷ também observaram o decréscimo de pH do MTA-Angelus cinza com o passar do tempo, em 24 h foi de 10.39 e após 15 dias foi de 7.72.

No período imediato e de 24 h o pH das soluções onde foram imersos os cimentos com CaCl_2 foi significativamente maior do que o proporcionado pelos cimentos puros ($p < 0,05$), sem diferença nos períodos mais longos.

O CaCl_2 parece melhorar as propriedades físico-químicas dos cimentos. Ele diminuiu o tempo de presa e a solubilidade, e manteve o pH elevado. Uma possível explicação para os resultados encontrados, é a penetração do CaCl_2 nos poros dos cimentos acelerando fortemente a hidratação dos silicatos, fazendo com que se cristalizem mais rápido, resultando numa diminuição do tempo de presa (Popovics⁷⁰, 1979; Ramachandran⁷¹, 1984). Ele também pode alterar a composição química, a área de superfície e as características dos poros dos cimentos, trazendo como vantagens o aumento da resistência à compressão e diminuição da permeabilidade (Ramachandran⁷¹, 1984). A massa de cimento menos permeável evita a solubilidade dos seus componentes. Mesmo assim, observamos que os cimentos têm a capacidade de perder e absorver água com o passar do tempo, como relatado por Fridland, Rosado³⁷ em 2003.

Com o acréscimo do CaCl_2 ao MTA e ao cimento Portland, foi necessária menor quantidade de água para se atingir uma consistência adequada; isto é uma vantagem pois quanto maior a porcentagem de água maior será a formação de poros capilares (Manual Técnico Vedacit⁶², 2003), o que torna o cimento mais permeável e reduz sua resistência mecânica. Ou seja, quanto maior a quantidade de água na mistura maior será a solubilidade e porosidade (Fridland, Rosado³⁷, 2003). Possivelmente o acréscimo do CaCl_2 diminuiu a quantidade de poros na massa do cimento.

Recentemente o óxido de bismuto foi relacionado com a porosidade. Na pesquisa conduzida por Coomaraswamy et al.²⁰ (2007), quando o cimento Portland foi misturado com uma maior porcentagem do radiopacificador a sua porosidade aumentou. Segundo os autores, isso implica em uma maior solubilidade e degradação do material (Coomaraswamy et al.²⁰, 2007).

Outros fatores que podem influenciar na solubilidade do MTA são: o tamanho das partículas, proporção pó/líquido, temperatura, presença de água e de bolhas de ar durante a manipulação (Torabinejad et al.⁹⁷, 1993).

Os resultados mostraram que os cimentos com CaCl_2 apresentaram maiores valores de pH do que os cimentos puros nos períodos iniciais. Bortoluzzi et al.¹⁴ também encontraram valores de pH significativamente maiores para os cimentos com CaCl_2 no período imediato. Entretanto, Ramachandran⁷¹ relatou que ocorre redução do pH do cimento Portland quando o CaCl_2 é adicionado. A possível explicação para o aumento do pH é a repulsão entre os íons cloro (Cl^-) e os íons hidroxila (OH^-) dentro da massa do cimento. Quando acrescentamos água à mistura, os íons Cl^- se difundem rapidamente e tomam lugar dentro da reação de hidratação dos silicatos. Esta rápida difusão dos íons Cl^- para dentro da massa do cimento faz com que ocorra uma difusão contrária dos íons OH^- , por terem cargas elétricas iguais (Kondo et al.⁵⁶, 1977).

A metodologia empregada neste estudo também pode estar relacionada ao aumento do pH. Uma maior área de superfície dos cimentos ficou exposta, facilitando a solubilidade do hidróxido de cálcio, composto formado pela hidratação do MTA e do cimento Portland. Em meio aquoso, o hidróxido de cálcio se dissocia em íons cálcio e hidroxila. Outra hipótese é que o CaCl_2 , por ser uma substância higroscópica e com grande poder de penetração nos poros dos cimentos, além da ação sobre os silicatos, faz com haja maior e melhor hidratação dos outros componentes do cimento, por exemplo a do óxido de cálcio, e consequentemente maior formação de hidróxido de cálcio.

É por meio da liberação dos íons hidroxila e dos íons cálcio que os MTAs atuam biologicamente. Os íons cálcio reagem com o gás carbônico dos tecidos dando origem às granulações de calcita (Holland et al.⁴⁴, 1999; Holland et al.⁴⁵, 2001). Junto a essas granulações acumula-se fibronectina (Seux et al.⁸⁰, 1991), a qual permite adesão e diferenciação celular com conseqüente formação de tecido mineralizado. Para Sakkar et al.⁷⁸ (2005) os íons cálcio se ligam ao fosfato, encontrado em maior abundância nos tecidos, dando origem a hidroxiapatita e não a

calcita. Os MTAs acrescidos de 10% de CaCl_2 liberam mais íons cálcio do que os puros quando imersos em água destilada (Bortoluzzi et al.¹³, 2006), característica importante para o reparo tecidual. Por este motivo, Juarez-Broon et al.⁵⁰ (2006) investigaram a influência do acréscimo do CaCl_2 na compatibilidade tecidual do MTA e cimento Portland. O estudo foi desenvolvido em cães, onde perfurações radiculares laterais foram seladas pelos materiais. Todos os materiais, com e sem CaCl_2 , mostraram boa tolerância tecidual, criando condições biológicas que favoreceram o reparo no local da perfuração, havendo neoformação de cimento e organização do ligamento periodontal. Abdullah et al.¹ (2002) mostraram que o cimento Portland com a adições de 10 e 15% de CaCl_2 não foram tóxicos sobre cultura de células SaOS-2. Os autores observaram que a adição do CaCl_2 , como agente acelerador da presa, não produz nenhum efeito adverso, melhorando inclusive a biocompatibilidade do material.

6.2 Atividade antimicrobiana

Para avaliação da atividade antimicrobiana foi empregada a técnica da difusão em ágar, usando o método do poço. Este método, apesar de algumas limitações como dificuldade de padronização da densidade do inóculo, viscosidade do ágar, condições de armazenamento das placas, tamanho e número de espécies por placa, tempo e temperatura de inoculação (Weiss et al.¹⁰⁸, 1996), constitui ainda o principal método de avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de materiais endodônticos (Tobias⁹⁵, 1988; Siqueira, Uzeda⁸⁴, 1997; Barbosa et al.¹¹, 1997, Leonardo et al.⁶⁰, 2000).

Outra limitação deste método é não estabelecer parâmetros confiáveis para comparar substâncias com diferentes características químicas, como a capacidade de dissociação e difusão em um meio semi-sólido, não expressando seus reais efeitos antimicrobianos (Estrela et al.³³, 1999). Vale lembrar que antes do teste, semelhante consistência foi encontrada para os cimentos, pela manipulação de diferentes proporções de pó/líquido. Por este motivo, a difusão dos cimentos em ágar também foi semelhante.

A escolha dos microrganismos foi realizada baseada nos trabalhos que avaliaram a propriedade antimicrobiana do MTA (Torabinejad et al.¹⁰⁰, 1995; Estrela et al.³², 2000; Al-Nazhan et al.⁶, 2003; Subramanian et al.⁸⁹, 2003; Stowe et al.⁸⁸, 2004; Al-Hezaimi et al.⁴, 2005; Sipert et al.⁸³, 2005; Eldeniz et al.³⁰, 2006; Al-Hezaimi et al.³, 2006; Al-Hezaimi et al.⁵, 2006) (Anexo 2) e na disponibilidade de aquisição do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP. Todos os microrganismos foram procedentes da American Type Culture Collection (ATCC).

Para a interpretação dos resultados foi empregado um microscópio óptico (Olympus, modelo VT-II, Tokyo, Japão), o qual possibilitou a observação apurada dos halos de inibição sem a presença de colônias formadas pelos microrganismos. Alguns estudos empregaram o cloreto de trifetil tetrazólico (TTC) para otimizar a medição dos halos (Leonardo et al.⁶⁰, 2000; Sipert et al.⁸³, 2005). O TTC proporciona contraste dos halos com a coloração rósea das colônias vivas, e possibilita a diferenciação entre os halos de inibição e diluição dos cimentos. No presente estudo não foi utilizado o TTC por não fazer parte da rotina e dos protocolos de pesquisa do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, entretanto, a otimização das medições foi conseguida pelo microscópio.

Os resultados mostraram que todos os cimentos e misturas avaliadas possuem atividade antimicrobiana. Observamos na literatura que estudos que empregaram a mesma metodologia chegaram a resultados diferentes (Torabinejad et al.¹⁰⁰, 1995, Estrela et al.³², 2000, Subramanian et al.⁸⁹, 2004; Stowe et al.⁸⁸, 2004, Sipert et al.⁸³, 2005, Miyagak et al.⁶⁴, 2006, Ribeiro et al.⁷³, 2006) (Tabela 13). Entretanto, nenhum dos trabalhos utilizou os mesmos materiais avaliados neste estudo. Desta forma nossos resultados não podem ser comparados diretamente.

Tabela 13 - Microrganismos, materiais utilizados e resultados da atividade antimicrobiana dos estudos que empregaram o método de poço

Estudos	Torabinejad et al. ¹⁰⁰ (1995)	Estrela et al. ³² (2000)		Subramanian et al. ⁸⁹ (2003)	Stowe et al. ⁸⁸ (2004)	Sipert et al. ⁸³ (2005)	Miyagak et al. ⁶⁴ (2006)		Ribeiro et al. ⁷³ (2006)		
Materiais Microrg.	ProRoot cinza	ProRoot cinza	CP cinza	ProRoot cinza	ProRoot cinza	ProRoot cinza	ProRoot cinza	CP cinza	ProRoot cinza	MTA-Angelus cinza	CP cinza
<i>E. coli</i>	(-)				(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>P. aeruginosa</i>		(-)	(-)		(+)	(+)			(+)	(+)	(+)
<i>S. aureus</i>	(-)	(-)			(+)	(+)	(-)	(-)			
<i>E. faecalis</i>	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>S. mutans</i>	(+)										
<i>C. albicans</i>		(-)	(-)		(+)	(+)	(-)	(-)			
<i>S. epidermidis</i>	(+)					(+)					

(+) com atividade antimicrobiana; (-) sem atividade antimicrobiana.

Analisando a Tabela 13, o MTA parece ser efetivo sobre a *P. aeruginosa*, *S. mutans* e *S. epidermidis*. Quanto a sua ação sobre a *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis* e *C. albicans*, há a necessidade de mais estudos que comparem as cepas por duas ou mais metodologias, utilizando os mesmos materiais e proporções.

Al-Hezaimi et al.^{3,4,5} utilizaram o método de diluição em tubos para avaliar a atividade antimicrobiana do MTA sobre a *C. albicans* e *E. faecalis*, respectivamente (Tabela 14). Os autores empregaram várias proporções de MTA/água. Observaram que o ProRoot MTA branco só foi efetivo sobre a *C. albicans* em maiores concentrações e nos períodos de 1 a 168 h. O ProRoot MTA branco não exerceu ação sobre o *E. faecalis*, mesmo na maior concentração utilizada. Estes resultados diferem parcialmente dos nossos, não só devido à metodologia

empregada, mas principalmente pelas proporções utilizadas. Usamos uma quantidade de pó duas vezes maior e de líquido, quatro vezes menor. Talvez, a maior concentração de MTA tenha ampliado sua atividade antimicrobiana.

Tabela 14 - Microrganismos, materiais utilizados e resultados da atividade antimicrobiana dos estudos que empregaram o método de diluição em tubo

Estudos	Al-Nazhan et al. ⁶ (2003)	Al-Hezaimi et al. ⁴ (2005)	Al-Hezaimi et al. ³ (2006)		Eldeniz et al. ³⁰ (2006)	Al-Hezaimi et al. ⁵ (2006)		Mohammadi et al. ⁶⁵ (2006)	
Materiais Microrg.	ProRoot cinza	ProRoot cinza	ProRoot cinza	ProRoot branco	ProRoot cinza	ProRoot cinza	ProRoot branco	ProRoot cinza	ProRoot branco
P. aeruginosa					(+)				
S. aureus					(±)				
E. faecalis					(±)	(-)50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 mg/mL (0 h) (+)50; 25; 12,5 mg/mL (24-72 h) (-) 6,25 e 3,12 mg/mL (24-72 h)	(-)50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 mg/mL (0-72 h)	(-) 1 h (+) 24-72 h	(-) 1 h (+) 24-72 h
C. albicans	(+) entre 1 e 3 dias	(+)50 mg/mL (1-72 h) (+)25 mg/mL (1-24 h) (-)25 mg/mL (48-72 h) (-) baixas []	(-)50, 25, 12,5 mg/mL (0 h) (+)50, 25, 12,5 mg/mL (24-168 h)	(-)50, 25, 12,5 mg/mL (0 h) (+) 50 e 25 mg/mL (24-168 h)					

(+) com atividade antimicrobiana; (-) sem atividade antimicrobiana; (±) inibiu mais não eliminou.

O acréscimo do CaCl_2 , de uma forma geral, aumentou os halos de inibição dos cimentos. O CPB+ CaCl_2 apresentou os maiores halos de inibição, seguido pelo PRO+ CaCl_2 e MTA+ CaCl_2 .

Provavelmente isto ocorreu devido a maior formação de hidróxido de cálcio, formado pela ligação química da água (H_2O) com o óxido de cálcio (CaO) dos cimentos. O CaCl_2 tem um grande poder de penetração nos poros do cimento, facilitando as ligações químicas, fazendo com que haja uma melhor e mais rápida hidratação do pó. O hidróxido de cálcio em contato com o meio se dissocia em íons hidroxila e cálcio. Neste estudo observamos que até 72h, o pH dos cimentos, com ou sem CaCl_2 , foram significativamente elevados, o que é interessante para inibição do crescimento microbiano ou eliminação deste (Siqueira, Lopes⁸⁵, 1999). Os íons hidroxila podem destruir os fosfolipídios da membrana celular bacteriana, desnaturar proteínas interrompendo o metabolismo celular, e também reagir com o DNA bacteriano induzindo a separação de suas cadeias (Siqueira, Lopes⁸⁵, 1999). Outra possível explicação é o efeito do cloro sobre as bactérias. A atividade antimicrobiana do CaCl_2 puro não foi avaliada, sendo objeto de uma futura investigação.

7 Conclusão

Diante dos resultados obtidos, e considerando as limitações inerentes à metodologia empregada, podemos concluir que o acréscimo de 10% de cloreto de cálcio ao MTA e ao cimento Portland branco com radiopacificador:

- 1) diminuiu o tempo de presa de ambos os cimentos;
- 2) diminuiu a solubilidade e não promoveu a desintegração de ambos os cimentos;
- 3) aumentou significamente o pH do MTA nos períodos imediato, 24 e 72 h e o do CPB nos períodos imediato e 24 h. Nos demais períodos o pH dos cimentos não foi alterado significamente;
- 4) não interferiu na atividade antimicrobiana de ambos os cimentos.

Referências*

1. Abdullah R, Pitt Ford TR, Papaioannou S, Nicholson J, McDonald F. An evaluation of accelerated portland cement as a restorative material. *Biomaterials*. 2002; 23: 4001-10.
2. Al-Hezaimi K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Human saliva penetration of root canals obturated with two types of mineral trioxide aggregate cements. *J Endod*. 2005; 31: 453-6.
3. Al-Hezaimi K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Comparision of antifungal activity of white-colored mineral trioxide aggregate (MTA) at similar concentrations against *Candida albicans*. *J Endod*. 2006; 32: 365-7.
4. Al-Hezaimi K, Al-Hamdan K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JHS, Rotstein I. Effect of white-colored Mineral Trioxide Aggregate in different concentrations on *Candida albicans* in vitro. *J Endod*. 2005; 31: 684-6.
5. Al-Hezaimi K, Al-Shalan TA, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Antibacterial effect of two mineral trioxide aggregate (MTA) preparations against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus sanguis* in vitro. *J Endod*. 2006; 32: 1053-6.
6. Al-Nazhan S, Al-Judai A. Evaluation of antifungal activity of mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2003; 29: 826-7.
7. American National Standard. American Dental Association Specification n° 57 for endodontic filling materials. Chicago: ADA; 1984.
8. American Society for Testing and Materials. Standard test method for time and setting of hydraulic-cement paste by Gillmore needles, ASTM C266-03. Philadelphia: ASTM; 2000.
9. Andreasen JO, Munksgaard EC, Bakland LK. Comparison of fracture resistance in root canals of immature sheep teeth after filling with calcium hydroxide or MTA. *Dent Traumatol*. 2006; 22: 154-6.
10. Anthony DR, Gordon TM, Del-Rio CE. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982; 54: 560-5.

* De acordo com estilo Vancouver. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

11. Barbosa CAM, Gonçalves RB, Siqueira JF Jr, Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod.* 1997; 23:297-300.
12. Bernabé PFE, Holland R. Cirurgia parodontal: como praticá-la com embasamento científico. In: Estrela C. *Ciência endodôntica*. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.657-797.
13. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Duarte MAH, Demarchi ACCO, Bramante CM. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement. *J Endod.* 2006; 32: 1194-7.
14. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Garcia RB, Moraes IG, Bernardineli N. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. *J Endod.* 2006; 32: 897-900.
15. Bozeman TB, Lemon RR, Eleazer PD. Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA. *J Endod.* 2006; 32: 425-8.
16. Bramante CM, Berbert A, Bernardineli N. Retroinstrumentação e retroobturação. *RGO.* 1992; 40: 38-40.
17. Bramante CM, Menezes R, Moraes IG, Bernardineli N, Garcia RB, Letra A. Use of MTA and intracanal post reinforcement in a horizontally fractured tooth: a case report. *Dent Traumatol.* 2006; 22: 275-8.
18. Camilleri J, Montesin FE, Papaioannou S, McDonald F, Pitt Ford TR. Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2004; 37:699-704.
19. Chng HK, Islam I, Yap AUJ, Tong YW, Koh ET. Properties of new root filling material. *J Endod.* 2005; 31: 665-8.
20. Coomaraswamy KS, Lumley PJ, Hofmann MP. Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system. *J Endod.* 2007; 33: 295-8.
21. Dammaschke T, Gerth HUV, Züchner H, Schäfer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater.* 2005; 21: 731-8.

22. Danesh G, Dammaschke T, Gerth HUV, Zandbiglari T, Schäfer E. A comparative study of selected properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements. *Int Endod J*. 2006; 39: 213-9.
23. Deal BF, Wenckus CS, Johnson BR, Fayad MI. Chemical and physical properties of MTA, Portland cement, and a new experimental material, Fast-Set MTA [abstract 70]. *J Endod*. 2002; 28 :252.
24. DENTSPLY Tulsa Dental. Material safety data sheet [cited 2007 Abr 14]. Available from: <http://www.tulsadental.dentsply.com>
25. Diamanti E, Kerezoudis NP, Gakis DB, Tsatsas V. Chemical composition and surface characteristics of grey and new white ProRoot MTA [abstract R81]. *Int Endod J*. 2003; 36: 946-7.
26. Duarte MA, Demarchi ACCO, Moraes IG. Determination of pH and calcium ion release provided by pure and calcium hydroxide-containing AHPlus. *Int Endod J*. 2004; 37: 42-5.
27. Duarte MAH, Demarchi ACCO, Yamashita JC, Kuga MC, Fraga SC. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2003; 95: 345-7.
28. Duarte MAH, Weckwerth PH, Weckwerth ACVB, Kuga MC, Simões JRB. Avaliação da contaminação do MTA Angelus e do cimento de Portland. *JBC: Jornal Brasileiro de Clínica Odontológica Integrada*. 2002; 6: 155-7.
29. Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. *Int Endod J*. 2003; 36: 44-8.
30. Eldeniz AU, Hadimli HH, Ataoglu H, Ørstavik D. Antibacterial effect of selected root-end filling materials. *J Endod*. 2006; 32: 345-9.
31. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in the dog--Part I. *Braz Dent J*. 1996; 7: 41-6.
32. Estrela C, Bahmann LL, Estrela CRA, Silva RS, Pécora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J*. 2000; 11: 19-27.

33. Estrela C, Pécora JD, Souza-Neto MD, Estrela CRA, Bammann LL. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. *Braz Dent J.* 1999; 10: 63-72.
34. Faraco IMJr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol.* 2001; 17: 163-6.
35. Felipe WT, Felipe MCS, Rocha MJC. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J.* 2006; 39: 2-9.
36. Ferreira FBA, Silva ESPA, do Vale MS, de Moraes IG, Granjeiro JM. Evaluation of pH levels and calcium ion release in various calcium hydroxide endodontic dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 97: 388-92.
37. Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod.* 2003; 29: 814-7.
38. Fridland M, Rosado R. MTA solubility: a long term study. *J Endod.* 2005; 31: 376-9.
39. Funteas UR, Wallace JA, Fochtman EW. A comparative analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Aust Endod J.* 2003; 29: 43-4.
40. Gartner AH, Dorn SO. Advances in endodontic surgery. *Dent Clin North Am.* 1992; 38: 357-78.
41. Harrington PP. Post retention with mineral trioxide aggregate and accelerated Portland cement [Dissertation]. Morgantown: West Virginia University; 2005.
42. Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabe PF, Dezan Junior E. Reaction of dogs' teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. *J Endod.* 1999; 25: 728-30.
43. Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabe PF, Dezan Junior E. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod.* 2001; 27: 281-4.
44. Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod.* 1999; 25: 161-6.

45. Holland R, Souza V, Murata SS, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA, et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J.* 2001; 12: 109-13.
46. Hsien HC, Cheng YA, Lee YL, Lan WH, Lin CP. Repair of perforation internal resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. *J Endod.* 2003; 29: 538-9.
47. Islam I, Chng HK, Yap AUJ. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement. *J Endod.* 2006; 32: 193-7.
48. Islam I, Chng HK, Yap AUJ. X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Int Endod J.* 2006; 39: 220-5.
49. Javelet J, Torabinejad M, Backland LK. Comparison of two pH levels for the induction of apical barriers in immature teeth of monkeys. *J Endod.* 1985; 11: 375-8.
50. Juarez-Broon N, Antunes-Bortoluzzi E, Monteiro-Bramante C, Francisco de Assis G, Bernardineli N, Gomes-de Moraes I, et al. Tratamiento de perforaciones radiculares con Agregado Trióxido Mineral (MTA) y cemento Portland blanco con cloruro de cálcio al 10% en dientes de perros. *Rev Sanid Milit Mex.* 2006; 60: 94-102.
51. Keiser K, Johnson CC, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod.* 2000; 26: 288-91.
52. Kettering JD, Torabinejad M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod.* 1995; 21: 537-42.
53. Kim S, Kratchman S. Modern endodontic surgery concepts and practice: a review. *J Endod.* 2006; 32: 601-23.
54. Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod.* 2006; 32: 569-72.
55. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 1998; 24: 543-7.
56. Kondo R, Daimon M, Sakai E, Ushiyama H. Influence of inorganic salts on the hydration of tricalcium silicates. *J Appl Chem Biotechnol.* 1977; 24: 191-7.

57. Leão MP, Magini RS. Coagulação (formação do gel): trombina + cloreto de cálcio x cloreto de cálcio. In: Pontual MAB, Magini RS, editores. Plasma rico em plaquetas (PRP) e fatores de crescimento: das pesquisas científicas à clínica odontológica. São Paulo: Ed. Santos; 2004. p.233-7.
58. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. J Endod. 1993; 19: 541- 4.
59. Lee YL, Lee BS, Lin FH, Lin AY, Lan WH, Lin CP. Effects of physiological environments on the hydration behavior of mineral trioxide aggregate. Biomaterials. 2004; 25:787-93.
60. Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J Endod. 2000; 26: 391-4.
61. Mah T, Basrani B, Santos JM, Pascon EA, Tjäderhane L, Yared G, et al. Periapical inflammation affecting coronally-inoculated dog teeth with root fillings augmented by white MTA orifice plugs. J Endod. 2003; 29: 442-6.
62. Manual técnico Vedacit: aditivos para concreto e argamassas. 39^aed. Salvador; 2003 [citado em 2005 Ago 8]. Disponível em: <http://www.vedacit.com.br>
63. Menezes R, Bramante CM, Letra A, Carvalho VGG, Garcia RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and White Portland cements as wound dressings. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004; 98: 376-9.
64. Miyagak DC, Carvalho EMOF, Robazza CRC, Chavasco JK, Levorato GL. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. Braz Oral Res. 2006; 20: 303-6.
65. Mohammadi Z, Modaresi J, Yazdizadeh M. Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. Aust Endod J. 2006; 32: 120-2.
66. Moretton TR, Brown CE, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. J Biomed Mater Res. 2000; 52: 528-33.

67. O'Sullivan SM, Hartwell GR. Obturation of a retained primary mandibular second molar using mineral trioxide aggregate: a case report. *J Endod.* 2001; 27: 703-5.
68. Pitt Ford TR, Torabinejad M, Abedi HR, Bakland LK, Kariawasam SP. Using mineral trioxide aggregate as a pulp capping material. *J Am Dent Assoc.* 1996; 127: 1491-4.
69. Pitt Ford TR, Torabinejad M, McKendry DJ, Hong CU, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 79: 756-63.
70. Popovics S. Concrete making. Washington: McGraw-Hill Book Company; 1979.
71. Ramachandran VS. Concrete admixtures handbook. New Jersey: Noyes Publications; 1984.
72. Regan JD, Gutmann JL, Whitherspoon DE. Comparision of Diaket and MTA when used as root-end filling materials to support regeneration of the periradicular tissues. *Int Endod J.* 2002; 35: 840-7.
73. Ribeiro CS, Kuteken FA, Hirata Júnior R, Scelza MFZ. Comparative evaluation of antimicrobial action of MTA, calcium hydroxide and Portland cement. *J Appl Oral Sci.* 2006; 14: 330-3.
74. Ribeiro DA, Duarte MA, Matsumoto MA, Marques ME, Salvadori DM. Biocompatibility in vitro tests of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements. *J Endod.* 2005; 31: 605-7.
75. Roy CO, Jeansonne B, Gerrets TF. Effect of an acid environment on leakage of root-end filling materials. *J Endod.* 2001; 27: 7-8.
76. Saidon J, Jianing H, Zhu Q, Safavi K, Spangberg L. Cell and tissue reactions to mineral aggregate and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 95: 483-9.
77. Santos AD, Moraes JC, Araujo EB, Yukimitu K, Valerio Filho WV. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. *Int Endod J.* 2005; 38: 443-7.

78. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2005; 31: 97-100.
79. Schwartz RS, Mauger M, Clement DJ, Walker WA. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. *J Am Dent Assoc.* 1999; 130: 967-75.
80. Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. *Arch Oral Biol.* 1991; 36: 117-28.
81. Silva Herzog-Flores D, Andrade LMV, Méndez VG, Medellín FJR, Benavides MVG, González VB. Análisis fisicoquímico del mineral trióxido agregado (MTA) por difracción de rayos X calorimetría y microscopia electrónica de barrido. *Rev Asoc Dent Mex.* 2000; 53:125-31.
82. Silva RF, Emílio de Souza R, Galhardo R, Cruz-Filho AM, Souza-Neto MD. Estudo das propriedades de estabilidade dimensional e solubilidade e desintegração dos cimentos MTA e tipo Portland [abstract Pa186]. *Braz Oral Res.* 2002; 16 (Suppl):145.
83. Sipert CR, Hussne RP, Nishiyama CK, Torres SA. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *Int Endod J.* 2005; 38: 539-43.
84. Siqueira JF, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod.* 1997; 23:167-9.
85. Siqueira Jr JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999; 32: 361-9.
86. Sluyk SR, Moon PC, Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. *J Endod.* 1998; 24:768-71.
87. Soares IML. Resposta pulpar ao MTA – agregado de trióxido mineral – comparando ao hidróxido de cálcio em pulpotomias. Histológico em dentes de cães [Tese Professor Titular]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 1996.

88. Stowe TJ, Sedgley CM, Stowe B, Fenno JC. The effects of Chlorhexidine Gluconate (0.12%) on antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2004; 30: 429-31.
89. Subramanian K, Mickel AK, Chogle S, Jones J, Wright R. Can ProRoot® become more microbe "unfriendly" [abstract 31]. *J Endod.* 2003; 29: 306.
90. Tagger M, Tagger E, Kfir A. Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. *J Endod.* 1988; 14: 588-91.
91. Takita T, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Suzuki N, Otsuka K, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. *Int Endod J.* 2006; 39: 415-22.
92. Tamburic SD, Vuleta GM, Ognjanovic JM. In vitro release of calcium and hydroxyl ions from two types of calcium hydroxide preparation. *Int Endod J.* 1993; 26: 125-30.
93. Tang HM, Torabinejad M, Kettering JD. Leakage evaluation of root end filling materials using endotoxin. *J Endod.* 2002; 28: 5-7.
94. Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ, Kirkwood KL. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2003; 29: 407-12.
95. Tobias RS. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *Int Endod J.* 1988; 21:155-60.
96. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 1999; 25: 197-205.
97. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of an MTA when used as a root end filling material. *J Endod.* 1993; 19: 591-5.
98. Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ, Pitt Ford TR. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod.* 1994; 20:159-63.
99. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995; 21: 349-53.
100. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod.* 1995; 21: 403-6.

101. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod.* 1995; 21: 109-12.
102. Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod.* 1995; 21: 295-9.
103. Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *J Endod.* 1995; 21: 603-8.
104. Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod.* 1997; 24: 225-8.
105. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod.* 1981; 7: 17-21.
106. Tziafas D, Pantelidu O, Alvanou A, Belibasakis G, Papadimitriou S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *Int Endod J.* 2002; 35: 245-54.
107. Úbeda LT, Cardoso VES, Buzalaf MAR. Fluoride uptake in dental enamel after using fluoridated dentifrice, precede or not by a CaCl₂ solution rinse. *J Appl Oral Sci.* 2005; 13: 418-23.
108. Weiss EL, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontics sealers by a direct contact test. *Endod Dent Traumatol.* 1996; 12: 179-84.
109. Witherspoon D, Ham K. One-visit apexification: Technique for inducing root-end barrier formation in apical closures. *Pract Proced Aesthet Dent.* 2001; 13: 455-60.

ANEXOS

Anexo 1 - Ficha para registro e pesos (em g) das amostras do teste de solubilidade.

Grupos	Amostra	P _{H0}	P _{D0}	P _{H1}	P _{D1}	P _{H2}	P _{D2}	P _{H3}	P _{D3}	P _{H4}	P _{D4}	P _{H5}	P _{D5}
MTA	1	1,879	1,788	1,871	1,796	1,866	1,792	1,873	1,786	1,865	1,771	1,870	1,761
	2	1,721	1,636	1,716	1,640	1,709	1,636	1,713	1,620	1,709	1,607	1,713	1,636
	3	1,762	1,674	1,753	1,683	1,754	1,680	1,755	1,671	1,746	1,658	1,755	1,671
	4	1,730	1,649	1,720	1,654	1,719	1,649	1,726	1,644	1,722	1,635	1,721	1,624
	5	1,754	1,672	1,744	1,678	1,742	1,676	1,748	1,668	1,737	1,649	1,744	1,667
	6	1,871	1,779	1,863	1,784	1,861	1,787	1,865	1,778	1,861	1,760	1,858	1,755
MTA+CaCl ₂	1	1,721	1,621	1,712	1,605	1,771	1,679	1,778	1,678	1,782	1,697	1,781	1,691
	2	1,725	1,624	1,708	1,605	1,748	1,659	1,755	1,655	1,748	1,644	1,757	1,681
	3	1,673	1,578	1,660	1,555	1,759	1,672	1,765	1,674	1,761	1,667	1,766	1,717
	4	1,667	1,562	1,657	1,548	1,734	1,645	1,741	1,641	1,741	1,634	1,746	1,687
	5	1,700	1,603	1,690	1,588	1,782	1,702	1,788	1,696	1,782	1,684	1,789	1,711
	6	1,893	1,811	1,883	1,796	1,835	1,748	1,838	1,741	1,836	1,727	1,839	1,760
CPB	1	1,777	1,680	1,771	1,680	1,705	1,596	1,697	1,574	1,687	1,556	1,669	1,518
	2	1,764	1,665	1,748	1,664	1,700	1,596	1,693	1,574	1,680	1,555	1,666	1,515
	3	1,752	1,673	1,757	1,676	1,654	1,549	1,647	1,528	1,633	1,510	1,621	1,479
	4	1,741	1,649	1,736	1,649	1,648	1,538	1,643	1,515	1,625	1,496	1,609	1,463
	5	1,841	1,750	1,841	1,750	1,684	1,580	1,673	1,557	1,664	1,540	1,648	1,507
	6	1,786	1,704	1,784	1,706	1,877	1,790	1,851	1,772	1,862	1,756	1,868	1,740
CPB+CaCl ₂	1	1,776	1,653	1,753	1,610	1,743	1,594	1,732	1,573	1,715	1,541	1,711	1,513
	2	1,783	1,674	1,774	1,639	1,764	1,626	1,752	1,606	1,741	1,589	1,743	1,563
	3	1,644	1,538	1,634	1,505	1,626	1,493	1,617	1,473	1,601	1,442	1,603	1,421
	4	1,606	1,491	1,533	1,459	1,580	1,445	1,574	1,423	1,540	1,407	1,564	1,390
	5	1,731	1,620	1,719	1,584	1,712	1,568	1,699	1,549	1,689	1,529	1,679	1,488
	6	1,599	1,498	1,582	1,462	1,576	1,449	1,565	1,431	1,554	1,409	1,542	1,373

Anexo 2

Quadro A1. Microrganismos empregados nos trabalhos que avaliaram a atividade antimicrobiana do MTA.

Microrganismos	Torabinejad et al., 1995.	Estrela et al., 2000.	Al-Nazhan et al., 2003.	Stowe et al., 2004.	Al-Hezaimi et al., 2005.	Sipert et al., 2005.	Eldeniz et al., 2006.	Al-Hezaimi et al., 2006.
<i>Streptococcus faecalis</i>	x							
<i>Streptococcus mitis</i>	x							
<i>Streptococcus mutans</i>	x							
<i>Streptococcus salivarius</i>	x							
<i>Streptococcus sanguis</i>				x				
<i>Lactobacillus species</i>	x							
<i>Staphylococcus aureus</i>	x	x		x		x	x	
<i>Staphylococcus epidermis</i>	x					x		
<i>Bacillus subtilis</i>	x	x						
<i>Escherichia coli B</i>	x			x		x		
<i>Prevotella buccae</i>	x							
<i>Prevotella intermedia</i>	x							
<i>Prevotella melaninogenica</i>	x							
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	x			x				
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	x							
<i>Bacteroides fragilis</i>	x							
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	x							
<i>Candida Albicans</i>		x	x	x	x	x		x
<i>Enterococcus faecalis</i>		x		x		x	x	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		x		x			x	
<i>Actionomyces odontolyticus</i>				x				
<i>Micrococcus luteus</i>						x		

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 21 de maio de 2007.

EDUARDO ANTUNES BORTOLUZZI