

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

LAURA FERNANDA BONAFÉ

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E CITOTOXICIDADE DO BIOROOT RCS EM  
CONSISTÊNCIAS DISTINTAS

BAURU

2021

LAURA FERNANDA BONAFÉ

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E CITOTOXICIDADE DO BIOROOT RCS EM  
CONSISTÊNCIAS DISTINTAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título de bacharel em Odontologia - Centro  
Universitário Sagrado Coração.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr. Guilherme Ferreira da  
Silva.

BAURU

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| B697a | <p data-bbox="355 1406 619 1435">Bonafé, Laura Fernanda</p> <p data-bbox="355 1469 1264 1559">Atividade antimicrobiana e citotoxicidade do bioroot rcs em consistências distintas / Laura Fernanda Bonafé. -- 2021.<br/>23f. : il.</p> <p data-bbox="395 1592 930 1621">Orientador: Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva</p> <p data-bbox="355 1655 1110 1711">Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia)<br/>Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p data-bbox="355 1744 1264 1800">1. Silicato de cálcio.                      2. Endodontia.                      3. Citotoxicidade.                      I.<br/>Silva, Guilherme Ferreira da. II. Título.</p> |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

LAURA FERNANDA BONAFÉ

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E CITOTOXICIDADE DO BIOROOT RCS EM  
CONSISTÊNCIAS DISTINTAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título de bacharel em Odontologia - Centro  
Universitário Sagrado Coração.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Banca examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dr. Guilherme Ferreira da Silva  
Centro Universitário Sagrado Coração

---

Prof Dr Murilo Priori Alcalde  
Centro Universitário Sagrado Coração

Dedico este trabalho aos meus pais, com muito carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

Todas as palavras do mundo não são suficientes para agradecer aos meus pais, José Justino Bonafé e Gislene Cristina dos Santos, graças a eles esse sonho está se tornando realidade, eles que nunca mediram esforços e batalharam muito para que eu chegasse até aqui e tivesse a melhor formação. Mesmo com todas as dificuldades os dois me apoiaram nos momentos difíceis, sempre me incentivando com muito amor e carinho. Muito obrigada pai e mãe, isso tudo só foi possível graças a vocês, essa conquista é de vocês!

Um agradecimento especial ao meu querido orientador e professor Dr. Guilherme Ferreira da Silva, que me ensinou muito ao longo desses quatro anos de faculdade. Sou muito grata pela paciência e por toda ajuda, obrigada pela oportunidade de realizar a iniciação científica e por me conduzir até aqui no trabalho de conclusão do curso. Espero um dia me tornar uma profissional como o senhor.

Agradeço o Professor Dr. Murilo Priori Alcalde por aceitar a ser a minha banca e avaliar este trabalho.

Agradeço também a todos meus outros professores do UNISAGRADO que foram muito importantes na minha formação, sempre me passaram seus conhecimentos e me ajudaram nos momentos de dúvida. Obrigada professores, vocês são profissionais incríveis!

## RESUMO

Os cimentos de silicato de cálcio apresentam algumas vantagens em relação aos demais materiais endodônticos em virtude de sua biocompatibilidade e adaptação marginal. Um exemplo deste tipo de cimento é o BioRoot RCS que é um material pó/liquido indicado para a obturação do canal radicular. No entanto, a alteração na sua proporção resulta em uma consistência mais espessa que pode ser utilizado em outras aplicações clínicas, tais como, selamento de perfuração radiculares e reabsorções dentinárias. Assim, este estudo tem como objetivo analisar a atividade antimicrobiana e a citotoxicidade do BioRoot RCS, em duas consistências distintas (fluida e espessa). Após a manipulação, os materiais foram submetidos à avaliação antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* (ATCC 4083 e ATCC 29212) e *Candida albicans* (ATCC 10231) pelo teste de difusão radial. Além disso, o BioRoot RCS, em duas consistências distintas foi avaliado quanto à sua citotoxicidade por meio do teste do MTT em células pré-osteoblásticas. Ao final, todos os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Os resultados da avaliação antimicrobiana das diferentes consistências evidenciou que os materiais apresentaram ação frente à linhagem ATCC 4083 e a ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis* e também à *Candida albicans*. Além disso, pode ser observado halos de inibição significativamente maiores no BioRoot RCS fluído em comparação ao outro grupo. Após 24h, foi verificado que ambas as consistências permitiram uma viabilidade celular estatisticamente menor do que o grupo controle. Já nos períodos experimentais de 48h e 72h não foram encontradas diferenças entre o BioRoot (fluído e denso) e o grupo controle. Após 24h, foi verificado que ambas as consistências permitiram uma viabilidade celular estatisticamente menor do que o grupo controle. Já nos períodos experimentais de 48h e 72h não foram encontradas diferenças entre o BioRoot (fluído e denso) e o grupo controle. O BioRoo RCS em duas consistências distintas apresentaram atividade antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* e à *Candida albicans*. Além disso, estes materiais possuem baixa citotoxicidade sobre células pré-osteoblásticas e, portanto, podem ser considerados na prática clínica.

**palavras-chave:** Silicato de cálcio, endodontia, citotoxicidade.

## ABSTRACT

Calcium silicate cements have some advantages over other endodontic materials due to their biocompatibility and marginal adaptation. An example of this type of cement is BioRoot RCS, which is a powder/liquid material indicated for filling the root canal. However, the change in its proportion results in a thicker consistency that can be used in other clinical applications, such as root perforation sealing and dentin resorption. Thus, this study aims to analyze the antimicrobial activity and cytotoxicity of BioRoot RCS, in two different consistencies (fluid and thick). After handling, the materials were submitted to antimicrobial evaluation against *Enterococcus faecalis* (ATCC 4083 and ATCC 29212) and *Candida albicans* (ATCC 10231) by radial diffusion test. Furthermore, BioRoot RCS, in two different consistencies, was evaluated for its cytotoxicity through the MTT test in pre-osteoblastic cells. At the end, all data obtained were submitted to ANOVA and Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ). The results of the antimicrobial evaluation of the different consistencies showed that the materials showed action against the ATCC 4083 and ATCC 29212 strains of *Enterococcus faecalis* and also against *Candida albicans*. In addition, significantly greater halos of inhibition can be observed in the fluid BioRoot RCS compared to the other group. After 24h, it was verified that both consistencies allowed a statistically lower cell viability than the control group. In the experimental periods of 48h and 72h, no differences were found between the BioRoot (fluid and dense) and the control group. After 24h, it was verified that both consistencies allowed a statistically lower cell viability than the control group. In the experimental periods of 48h and 72h, no differences were found between the BioRoot (fluid and dense) and the control group. BioRoot RCS in two different consistencies showed antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. Furthermore, these materials have low cytotoxicity on pre-osteoblastic cells and, therefore, can be considered in clinical practice.

**Keywords:** Calcium silicate, endodontics, cytotoxicity.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Imagem ilustrativa do teste de difusão radial em ágar. .... | 16 |
|------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Material e proporções utilizadas.....                                                                           | 14 |
| Tabela 2 – Média dos halos de inibição nos diferentes grupos experimentais.....                                            | 18 |
| Tabela 3 – Viabilidade celular (absorbância) pré-osteoblásticas após 24h, 48h, 72h<br>determinados pelo teste do MTT. .... | 18 |

## SUMÁRIO

|     |                                                                                              |    |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1   | INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA .....                                                     | 12 |
| 2   | PROPOSIÇÃO .....                                                                             | 14 |
| 3   | MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                     | 15 |
| 3.1 | Atividade antimicrobiana contra <i>Enterococcus faecalis</i> .....                           | 15 |
| 3.2 | Atividade antimicrobiana contra <i>Candida albicans</i> .....                                | 16 |
| 3.3 | Citotoxicidade .....                                                                         | 17 |
| 4   | RESULTADOS .....                                                                             | 19 |
| 4.1 | Atividade antimicrobiana contra <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Candida albicans</i> ..... | 19 |
| 4.2 | Citotoxicidade .....                                                                         | 19 |
| 5   | DISCUSSÃO .....                                                                              | 20 |
| 6   | CONCLUSÕES .....                                                                             | 22 |

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Os materiais de silicato de cálcio surgiram, inicialmente, com o objetivo de selar comunicações entre a cavidade pulpar e o periodonto (Lee et al., 1993; Parirokh, Torabinejad 2010). Por sua consistência densa, posteriormente, foi preconizado em várias situações clínicas, tais como, no preenchimento de cavidades retrógradas, no selamento de perfurações radiculares e como tampão apical em dentes com rizogênese incompleta (Parirokh, Torabinejad 2010).

Uma das vantagens frequentemente atribuída aos materiais de silicato de cálcio é sua biocompatibilidade quando comparado a outros produtos comercialmente disponíveis (Torabinejad et al., 1997; Silva et al., 2011). Estudos *in vivo* mostraram que o MTA é capaz de induzir a formação de osso, dentina e cimento, favorecendo a reparação do periodonto (Torabinejad et al., 1997; Baek et al., 2005; Silva et al., 2011). Tem sido reportado que, em tecido subcutâneo de ratos, este material induz uma reação inflamatória moderada (Silva et al., 2015).

Além disso, estudos têm sugerido que o MTA é um material bioativo por induzir a deposição de cristais com características semelhantes à apatita (Reyes-Carmona et al., 2009; Reyes-Carmona et al., 2010). Em contato com a dentina, o MTA promove um processo de biomineralização que ocasiona a formação de uma camada na interface dentina-MTA com estruturas semelhantes à *tags* (Reyes-Carmona et al., 2009; Reyes-Carmona et al., 2010). A formação destes depósitos torna-se maior ao longo do tempo, resultando em uma camada maior e mais compacta (Reyes-Carmona et al., 2010).

Apesar das reconhecidas vantagens, este tipo de material com consistência densa, também chamado de reparador, não tem características adequadas para ser utilizado na obturação de canais radiculares, por ser de difícil inserção nas cavidades (Torabinejad et al. 2018). Por estas razões, vários tipos de cimentos de silicato de cálcio vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de melhora de suas propriedades (Gandolfi et al. 2009, Cutajar et al., 2011, Camps et al., 2015).

O BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, França) é um cimento à base de silicato tricálcio, pó/líquido e recomendado para obturação de canais radiculares. O pó contém silicato tricálcio e óxido de zircônio, enquanto que, o líquido é uma solução aquosa de cloreto de cálcio e policarboxilato. Já foi demonstrado que o BioRoot RCS induziu *in vitro* a produção de fatores de crescimento angiogênicos e osteogênicos (Camps et al., 2015). Além

disso, tem uma toxicidade menor do que outros cimentos endodônticos, também podendo induzir deposição de tecido duro (Nakov et al. 2015.)

Existe disponível comercialmente um material de silicato de cálcio (MTA Flow, Ultradent, EUA), desenvolvido para adquirir facilmente consistências para uma variedade de aplicações clínicas como, por exemplo, capeamento pulpar, pulpotomias, selamento de perfurações e reabsorções, retrobturações e dentes com rizogênese incompleta. Isto porque, segundo o fabricante, pode ser manipulado em diferentes proporções pó/liquido. Já foi demonstrado que o MTA Flow em diferentes consistências apresenta pH alcalino, baixa solubilidade, radiopacidade satisfatória e habilidade de formar depósitos de fosfato de cálcio (Guimarães et al. 2017). Além disso, foi verificado também que o MTA Flow em diferentes proporções apresenta biocompatibilidade após implantação em tecido subcutâneo de ratos (Mondelli et al., 2019).

Assim, considerando que o BioRoot RCS também é um cimento pó/liquido, sua consistência pode ser facilmente alterada, resultando em um produto capaz de ser utilizado em várias aplicações clínicas. Silva (2019) demonstrou que o BioRoot RCS em consistências distintas (fluída e densa) apresenta propriedades físico-químicas adequadas e, portanto, pode ser uma alternativa para uso na prática clínica de acordo com a indicação. No entanto, até o presente momento, não há estudos que tenham avaliado a influência destas modificações na atividade antimicrobiana e na citotoxicidade deste material.

## 2 PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem por objetivo investigar se a alteração na proporção pó/liquido do BioRoot RCS prejudica as propriedades antimicrobianas e biológicas deste material. Para isso, foram verificados:

- A atividade antimicrobiana do BioRoot RCS em consistências distintas (fluída e densa);
- A citotoxicidade deste cimento em consistências distintas (fluída e densa).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo, foram realizados os testes de atividade antimicrobiana e citotoxicidade do BioRoot RCS em duas consistências distintas (Silva, 2019). Na Tabela 1, estão descritos as proporções pó/liquido utilizadas.

Tabela 1. Material e proporções utilizadas.

| Material                  | Fluído               | Denso                | Composição                                                                                                                             |
|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           | Proporção pó/liquido | Proporção pó/liquido |                                                                                                                                        |
| BioRootRCS<br>(Septodont) | 0,50g/0,18µL         | 0,50g/0,12µL         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Silicato Tricálcico</li> <li>• Óxido de Zircônio</li> <li>• Polímero Hidrossolúvel</li> </ul> |

Fonte: Elaborado pelo autor

#### 3.1 Atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*

Para a avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* pelo método da difusão, as cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 4083 e a ATCC 29212 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) foram reativadas sobre a superfície de placas de ágar M-Enterococcus. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, em condições atmosféricas de aerobiose por 24-48 h. Após o período de ativação, a linhagem foi testada quanto à pureza da cultura e novamente identificada por métodos padrões de identificação bacteriana.

A partir das culturas, cinco colônias foram inoculadas em tubos contendo 4mL de caldo BHI estéril e incubados “overnight” a 37°C, em condições atmosféricas de aerobiose. Estas sub-culturas em caldo BHI foram transferidas para tubos contendo 5mL de solução salina estéril a fim de se obter uma turbidez padrão referente à escala 0,5 de Mac Farland, que corresponde a  $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC) mL<sup>-1</sup>.

Placas de Petri de 15x150 mm preparadas com ágar Mueller-Hinton (Merck®) foram escavadas em poços com 4 mm de diâmetro por 3 mm de profundidade. A superfície de cada placa foi semeada com uma zaragatoa de algodão estéril embebida na suspensão padrão, tomando-se o cuidado de preservar as escavações sem semeadura. Após a semeadura, as placas foram deixadas em temperatura ambiente por 30 minutos para absorção do inóculo.

Após o preenchimento dos poços com os materiais, as placas foram mantidas em temperatura ambiente para pré-incubação por duas horas e após foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação, utilizando-se um paquímetro digital, os halos de inibição bacteriana foram mensurados em milímetros sob luz transmitida. Os testes foram realizados em triplicata.

### **3.2 Atividade antimicrobiana contra *Candida albicans***

Para se avaliar a atividade antifúngica, foi utilizada a técnica de difusão radial sobre a superfície da placa de ágar Sabouraud dextrose (Merck®), segundo Weckwerth et al., 2012.

A partir da placa de ativação da levedura, 5 colônias foram transferidas para um tubo contendo 5 mL de caldo Sabouraud dextrose (Merck®) que foi incubado a 37°C “overnight”.

A partir do crescimento, foi preparado em salina estéril o ajuste para a densidade ótica do padrão de turbidez da escala 1,0 de McFarland (3 x 10<sup>8</sup> Unidades Formadoras de Colônias mL<sup>-1</sup>). Uma placa de Petri de 150 x 10 mm previamente preparada com ágar Sabouraud dextrose (Merck®) na espessura de 6 mm foi escavada em 7 poços com 4 mm de diâmetro por 3 mm de profundidade. A semeadura foi feita através de zaragatoa de algodão estéril na superfície da placa, tomando-se o cuidado de não semear o interior das escavações.

A placa foi colocada em estufa por 30 minutos para secagem da superfície do meio de cultura antes da colocação dos materiais. Após a espatulação, os poços foram preenchidos com os materiais e a placa foi deixada 2 horas em temperatura ambiente para pré-incubação. Após esse período, foi incubada em estufa 37°C, sob condições atmosféricas adequadas por 24 horas. Os halos de inibição foram mensurados com auxílio de um paquímetro digital sob luz refletida. O teste foi realizado em triplicata (Figura 1).

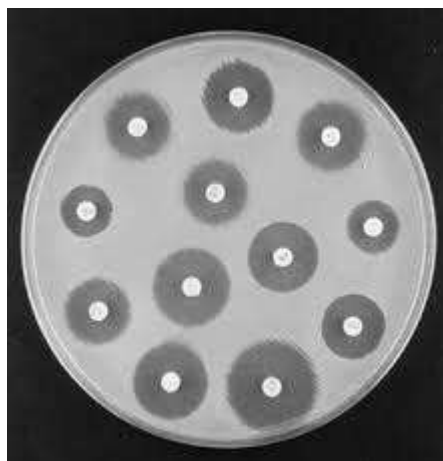


Figura 1: Imagem ilustrativa do teste de difusão radial em ágar.

### 3.3 Citotoxicidade

Para o cultivo celular, foram utilizados pré-osteoblastos de camundongo da linhagem MC3T3-E1 (ATCC®). As células foram cultivadas em  $\alpha$ -MEM (Meio Mínimo Essencial Alfa - Gibco®), suplementado com 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina - Gibco®) e 10% SFB (Soro Fetal Bovino- Gibco®), permanecendo em incubadora à 37°C contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Após atingirem o estágio de subconfluência, as células foram subcultivadas (tripsinizadas) utilizando-se a enzima tripsina, responsável por dissociar as células do frasco de cultura (0,25% tripsina, 1mM EDTA- Sigma-Aldrich®), após 5 minutos em incubadora à 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>, a tripsina foi inativada com meio de cultura  $\alpha$ -MEM com 10% SFB.

As células foram transferidas para um tubo falcon de 50 ml (Corning®) e centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos a 20°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em um novo meio. Em seguida, fez-se a contagem celular por meio do protocolo azul de tripan. Este corante é responsável por corar as células inviáveis. Posteriormente, as células foram utilizadas para os ensaios experimentais.

Para os ensaios de viabilidade foram plaqueadas 3x10<sup>3</sup> células/poço em placas de 96 poços (Corning®). Após incubação por 24h, o meio de cultivo foi substituído por meio  $\alpha$ -MEM 10% SFB condicionado ou não. Para cada placa, foi analisado um período experimental de 24 h, 48 h e 72 h após a adição do meio condicionado ou não. Após cada período experimental, o meio de cultura foi removido, as células foram lavadas com solução tampão PBS e em seguida foi realizado o ensaio de redução do MTT.

A análise da atividade mitocondrial das células foi realizada pelo método da redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl) -2,5- difeniltetrazólio) (Mossman, 1983). Esse

teste quantifica a conversão do MTT, que é solúvel em água, em um formazan insolúvel. O formazan, de cor azul purpúrea, é solubilizado e, então, sua concentração pode ser determinada pela densidade óptica em espectrofotômetro. Após os períodos experimentais (24, 48 e 72 h) as células foram lavadas com PBS, e em seguida incubadas numa solução de 0,5 mg de MTT para 1ml de  $\alpha$ -MEM sem SFB (Oliveira et al, 2016).

Após esse procedimento, as placas permaneceram em incubadora por 4h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>; em seguida a solução foi removida, o pigmento insolúvel reduzido intracelularmente foi extraído em DMSO (dimetilsulfóxido) e deixado em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a absorbância foi mensurada a 550 nm (Leitora Synergy h1 Monochromator-based Biotek) (Oliveira et al, 2016).

#### **- Análise estatística**

Os resultados quantitativos obtidos foram submetidos à análise estatística com o auxílio do programa Sigma Stat 2.0 (Jandel Scientific, Sausalito, CA). Aos dados foi aplicado o teste estatístico paramétrico ANOVA para comparação dos diferentes grupos entre si dentro de cada período experimental, posteriormente, quando observada diferença significativa em nível de 5%, foi realizada a comparação entre os materiais, dois a dois, pelo teste de comparações múltiplas de Tukey.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*

Os resultados da avaliação antimicrobiana das diferentes consistências evidenciou que os materiais apresentaram ação frente à linhagem ATCC 4083 e a ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis* e também à *Candida albicans*. Além disso, pode ser observado halos de inibição significativamente maiores no BioRoot RCS fluído em comparação ao outro grupo (Tabela 2).

Tabela 2. Média dos halos de inibição nos diferentes grupos experimentais.

|                       | ATCC 4083         | ATCC 29212      | <i>Candida albicans</i> |
|-----------------------|-------------------|-----------------|-------------------------|
| <b>BioRoot Fluído</b> | 31,2 <sup>a</sup> | 30 <sup>a</sup> | 27 <sup>a</sup>         |
| <b>BioRoot Denso</b>  | 26 <sup>b</sup>   | 25 <sup>b</sup> | 21 <sup>b</sup>         |

Fonte: Elaborado pelo autor

Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre os materiais ( $p \leq 0,05$ ).

### 4.2 Citotoxicidade

Após 24h, foi verificado que ambas as consistências permitiram uma viabilidade celular estatisticamente menor do que o grupo controle. Já nos períodos experimentais de 48h e 72h não foram encontradas diferenças entre o BioRoot (fluído e denso) e o grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3. Viabilidade celular (absorbância) pré-osteoblásticas após 24h, 48h, 72h determinados pelo teste do MTT.

|                          | 24h              | 48h              | 72h              |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|
| <b>BioRoot Fluído</b>    | 0,3 <sup>a</sup> | 1,1 <sup>a</sup> | 1,3 <sup>a</sup> |
| <b>BioRoot Denso</b>     | 0,3 <sup>a</sup> | 1,2 <sup>a</sup> | 1,3 <sup>a</sup> |
| <b>Controle Positivo</b> | 0,5 <sup>b</sup> | 1,1 <sup>a</sup> | 1,4 <sup>a</sup> |
| <b>Controle Negativo</b> | 0                | 0                | 0                |

Fonte: Elaborado pelo autor

Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística significativa entre os materiais e o grupo controle ( $p \leq 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

No intuito de adquirir materiais com diferentes consistências que possam ser utilizados em várias aplicações clínicas, no presente estudo, foram avaliadas as propriedades antimicrobianas e a citotoxicidade do BioRootRCS, em diferentes proporções pó/liquido.

Um material endodôntico, independentemente, da sua indicação clínica deve apresentar propriedades físicas, químicas e biológicas adequadas. Dentre estas características, se possível, estes produtos devem possuir atividade contra microrganismos que, porventura, resistirem ao tratamento endodôntico. No presente estudo, foram utilizados para esta avaliação o *Enterococcus faecalis* e a *Candida albicans* que sabe-se são patógenos mais resistentes aos procedimentos endodônticos (ODDS, 1988; Rôças et al. 2003). O *Enterococcus faecalis* é um microrganismo extensivamente relacionado com insucesso do tratamento endodôntico (ODDS, 1988; Rôças et al. 2003). Devido à sua alta resistência a medicamentos usados durante o tratamento endodôntico, é um dos poucos micro-organismos que tem demonstrado resistência *in vitro* ao efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio (EVANS et al., 2002).

Nossos resultados, evidenciaram que os materiais apresentaram atividade contra o *Enterococcus faecalis* e a *Candida albicans* após 24 horas. Considerando também as limitações do teste de difusão em água, esta atividade pode estar limitada ao tempo de presa dos materiais. Já foi demonstrado que o BioRoot RCS denso e fluido apresenta tempo de presa entre 40 min-169 min aproximadamente (Silva, 2019). É provável que esta atividade antimicrobiana, seja decorrente da solubilidade do material, e ocorra antes do tempo de presa final dos materiais. No entanto, outros estudos seriam necessários para comprovar este dado. Alsubait et al. (2019) observaram que a atividade antimicrobiana contra biofilme de *Enterococcus faecalis* é superior à outros tipos de cimentos endodônticos.

Nossos resultados *in vitro* da citotoxicidade evidenciaram que todas as pastas de hidróxido de cálcio promoveram a viabilidade celular em todos os períodos experimentais e diluições analisadas no presente estudo. Já foi amplamente demonstrado que materiais contendo  $\text{Ca(OH)}_2$  ou como produto de sua reação de hidratação não são citotóxicos (Cintra et al., 2017). O BioRoot RCS é um material à base de silicato tricálcico, produzindo durante os primeiros estágios do processo de hidratação o hidróxido de cálcio. Em relação às propriedades biológicas do BioRoot foi observado que este material é biocompatível e apresenta bioativavde e baixa citotoxicidade (Camps et al., 2015; Seo et al., 2019; Bardini et al., 2021).

Tendo em vista as limitações da metodologia do presente estudo, diante dos nossos dados pode-se afirmar que a alteração na proporção pó/liquido do BioRoot RCS não alterou a atividade antimicrobiana e a citotoxicidade do material.

## 6 CONCLUSÕES

O BioRoot RCS em duas consistências distintas apresentaram atividade antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* e à *Candida albicans*. Além disso, estes materiais possuem baixa citotoxicidade sobre células pré-osteoblásticas e, portanto, podem ser considerados na prática clínica.

## REFERÊNCIAS

- Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology*. 2019 Oct;107(4):513-520.
- Baek SH, Plenk H Jr, Kim S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. *J Endod* 2005;31:444-9.
- Bardini G, Casula L, Ambu E, Musu D, Mercadè M, Cotti E. A 12-month follow-up of primary and secondary root canal treatment in teeth obturated with a hydraulic sealer. *Clin Oral Investig*. 25(5):2757-2764, 2021.
- Camps J, Jeanneau C, El Ayachi I, Laurent P, About I. Bioactivity of a Calcium Silicate-based Endodontic Cement (BioRoot RCS): Interactions with Human Periodontal Ligament Cells In Vitro. *J Endod* 2015;41:1469-73.
- Cintra LTA, Benetti F, Queiroz IOA, Ferreira LL, Massunari L, Bueno CRE, de Oliveira SHP, Gomes-Filho JE. Evaluation of the cytotoxicity and biocompatibility of new resin epoxy-based endodontic sealer containing calcium hydroxide. *J Endod* 2017;43:2088–92.
- Cutajar A, Mallia B, Abela S, Camilleri J. Replacement of radiopacifier in mineral trioxide aggregate; characterization and determination of physical properties. *Dent Mat* 2011;27:879-91.
- Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International Endodontic Journal*. 2002;35(3):221-8.
- Gandolfi MG, Ciapetti G, Perut F, Taddei P, Modena E, Rossi PL, Prati C J. Biomimetic calcium-silicate cements aged in simulated body solutions. Osteoblast response and analyses of apatite coating. *J Appl Biomater Biomech* 2009;7:160-70.
- Guimaraes BM, Vivan RR, Piazza B, Alcalde MP, Bramante CM, Duarte MAH. Chemical-physical properties and apatite-forming ability of Mineral Trioxide Aggregate Flow. *J Endod* 2017;43:1692–6.
- Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993;19:541-4.
- Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A comprehensive literature review – part I: chemical, physical and antibacterial properties. *J Endod* 2010;36:16-27.

- Mondelli JAS, Hoshino RA, Weckwerth PH, Cerri PS, Leonardo RT, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, da Silva GF (2018). Biocompatibility of mineral trioxide aggregate flow and biodentine. *Int Endod J* 2019;52:193-200.
- Odds FC (1988). *Candida and candidosis—a review and bibliography*. 2nd ed. London: Baillière Tindall-W.B. Saunders.
- Oliveira FA, Matos AA, Santesso MR, Tokuhara CK, Leite AL, Bagnato VS, Machado MA, Peres-Buzalaf C, Oliveira RC. Low intensity lasers differently induce primary human osteoblast proliferation and differentiation. *J Photochem Photobiol B* 2016;163:14–21.
- Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with dentin in a phosphatecontaining fluid. *J Endod* 2009;35:731–6.
- Reyes-Carmona JF, Santos AS, Figueiredo CP, et al. Host-mineral trioxide aggregate inflammatory molecular signaling and biomineralization ability. *J Endod*;36:1347–53.
- Rôças, I.N.; Siqueira, J.F. JR; Santos, K.R.N. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*, 30, 315-20, 2003.
- Seo DG, Lee D, Kim YM, Song D, Kim SY. Biocompatibility and Mineralization Activity of Three Calcium Silicate-Based Root Canal Sealers Compared to Conventional Resin-Based Sealer in Human Dental Pulp Stem Cells. *Materials (Basel)*. 2019 Aug 5;12(15):2482.
- Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Histological and histomorphometrical evaluation of furcation perforations filled with MTA, CPM and ZOE. *Int Endod J* 2011;44:100-10.
- Silva TR. Avaliação das propriedades físico-químicas de dois materiais de silicato de cálcio em diferentes proporções. *Dissertação de Mestrado: Universidade do Sagrado Coração*. 2019.
- Silva GF, Tanomaru-Filho M, Bernardi MI, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. Niobium pentoxide as radiopacifying agent of calcium silicate-based material: evaluation of physicochemical and biological properties. *Clin Oral Invest* 2015;19:2015-25.
- 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;23:225-8.
- Torabinejad M, Alexander A, Vahdati SA, Grandhi A, Baylink D, Shabahang S. Effect of Residual Dental Pulp Tissue on Regeneration of Dentin-pulp Complex: An In Vivo Investigation. *J Endod* 2018;44:1796–1801.

Weckwerth PH, Carnietto C, Weckwerth ACVB, Duarte MAH, Kuga MC, Vivan RR. In vitro susceptibility of oral *Candida albicans* strains to different pH levels and calcium hydroxide saturated aqueous solution. *Braz Dent J* 2012;23:192-198.