

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

NATÁLIA VILLAS BÔAS WECKWERTH

**AVALIAÇÃO DO pH, LIBERAÇÃO DE ÍONS CÁLCIO
E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO
PORTLAND ASSOCIADO A *Bambusa textilis* EM
DIFERENTES PROPORÇÕES**

BAURU
2015

NATÁLIA VILLAS BÔAS WECKWERTH

**AVALIAÇÃO DO pH, LIBERAÇÃO DE ÍONS CÁLCIO
E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIMENTO
PORTLAND ASSOCIADO A *Bambusa textilis* EM
DIFERENTES PROPORÇÕES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências da
Saúde como parte dos requisitos para
obtenção do título de Bacharel em
Odontologia sob orientação do Prof. Dr.
Guilherme Ferreira da Silva

BAURU
2015

W387a	<p>Weckwerth, Natália Villas Bôas</p> <p>Avaliação do pH, liberação de íons cálcio e atividade antimicrobiana do cimento Portland associado a <i>Bambusa textilis</i> em diferentes proporções/ Natália Villas Bôas Weckwerth. -- 2015. 27f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva.</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.</p> <p>1. Cimento Portland.2. pH.3. Liberação de íons cálcio.4. Atividade antimicrobiana. I. Silva, Guilherme Ferreira da. II. Título.</p>
-------	--

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por esta oportunidade e por ter iluminado meu caminho nesses 4 anos de Universidade.

Aos pais, agradeço aos meus pais Carol e Paulo por estarem sempre presentes comigo nesta jornada, me incentivando, me apoiando.

Aos meus irmãos, Vitor e Artur, pelo incentivo.

Ao meu namorado, Alan, pelo apoio e ajuda.

Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva, meu orientador, meu eterno agradecimento pela dedicação e atenção na orientação final deste trabalho.

Prof. Dr. Fernando Accorsi Orosco, Coordenador do Curso de Odontologia da Universidade Sagrado Coração pelo aceite em participar da minha banca e pelo incentivo à todos nós alunos.

Prof. Dr. Rodrigo Ricci Vivan, idealizador inicial desta pesquisa, meu agradecimento pelo incentivo e amizade.

Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte, meus agradecimentos pela oportunidade de realização da parte prática deste projeto junto ao Depto. de Dentística, Endodontia e Materiais Odontológicos da FOB-USP.

Prof. Ms. Fernando Tozze Alves Neves, pelo fornecimento dos extratos vegetais usados nesta pesquisa.

Prof. Dr. Marco Antônio Pereira, pelo fornecimento das folhas de *Bambusa textilis* que foram usadas para a obtenção dos extratos.

Universidade Sagrado Coração, por ceder o espaço físico e os laboratórios para realização desta pesquisa.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o pH, liberação de íons cálcio e atividade antimicrobiana do cimento Portland associado a *Bambusa textilis* em diferentes proporções. O cimento foi assim proporcionado: grupo 1: 3 g Cimento Portland + 1,2 ml de *Bambusa textilis*; grupo 2: 3 g Cimento Portland + 0,6 ml de água + 0,6 de *Bambusa textilis*; grupo 3: 3 g Cimento Portland + 0,9 ml água + 0,3 ml de *Bambusa textilis*; grupo 4: 3 g Cimento Portland puro (controle) + 1,2 ml água; grupo 5: *Bambusa textilis* (controle): 20 microlitros por poço. Para os testes de pH e liberação de íons cálcio foram utilizados tubos de polietileno de 10 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro (n=10), os quais foram preenchidos com os cimentos e imediatamente imersos em frascos contendo 15 mL de água deionizada. Nos períodos de 3, 24, 72 e 168 horas, os tubos foram trocados de frascos, onde foram mensurados o pH e liberação de íons cálcio, por meio de um peagâmetro calibrado e espectrofotômetro de absorção atômica, respectivamente, da água onde os materiais permaneceram imersos, ao final de cada período. Para a análise da atividade antimicrobiana, foi utilizada a técnica de difusão radial. As bactérias testadas foram de linhagens de campo e uma estirpe de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. As estirpes foram ativadas sobre a superfície de placas de Brucella ágar suplementado com 5% de sangue de carneiro incubadas a 36°C por 24 horas. A partir dessas placas, cinco colônias foram transferidas para um tubo contendo 5 mL de caldo BHI que foi incubado a 36°C “overnight”. Placas de Petri com Mueller-Hinton ágar foram escavadas em poços com 5 mm de diâmetro por 3 mm de profundidade. Uma vez ajustada a densidade do inóculo, a semeadura foi realizada. As placas foram colocadas em estufa por 30 minutos para secagem da superfície do meio de cultura antes da colocação dos cimentos. Os poços foram preenchidos com os cimentos por meio de seringas tipo Luer-Look e as placas foram deixadas 2 horas em temperatura ambiente para pré-incubação. Após, foram incubadas em estufa bacteriológica a 36°C, sob condições atmosféricas adequadas por 24 horas. Os halos de inibição foram mensurados com auxílio de um paquímetro digital. Após a tabulação dos dados, foi realizada a análise estatística pelo teste ANOVA para comparação global, e teste de Tukey para comparações individuais, com nível de significância de 5%. Os resultados do pH mostraram valores próximos ao neutro para todos os grupos em todos os períodos experimentais. A liberação de íons cálcio ocorreu em todos os grupos e em todos os períodos experimentais. Em relação à atividade antimicrobiana, nenhuma das proporções apresentou atividade, em 24 ou 48 horas. Conclui-se que a associação da *Bambusa textilis* ao cimento Portland manteve seu pH e liberação de íons cálcio, mas não potencializou sua atividade antimicrobiana frente ao *E. faecalis*.

Palavras-chave: Cimento Portland. pH. Liberação de íons cálcio. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the pH, calcium ion release and antimicrobial activity of associated Portland cement the *Bambusa textilis* in different proportions. The concrete was so provided: 1 group: 3 g Portland cement 1.2 ml of *Bambusa textilis*; Group 2: 3 g Portland cement 0.6 ml 0.6 water of *Bambusa textilis*; Group 3: 3 g 0.9 ml Portland cement water 0.3 ml of *Bambusa textilis*; Group 4: 3 g pure Portland cement (control) 1.2 ml water; Group 5: *Bambusa textilis* (control): 20microlitros per well. For pH testing and release of calcium ions were used polyethylene tubes of 10 mm in length and 1 mm in diameter (n10), which were filled with the cements and immediately immersed in vials containing 15 mL of deionized water. In periods of 3, 24, 72 and 168 hours, the tubes were replaced where bottles were measured pH and release of calcium ions, by means of a calibrated peagameter and atomic absorption spectrophotometer, respectively, of the water where the materials remained immersed at the end of each period. For the analysis of antimicrobial activity, was used the technique of radial diffusion. The bacteria tested were of field strains of *Enterococcus faecalis* strain and ATCC 29212. Strains have been activated on the surface of Brucella agar plates supplemented with 5% sheep blood incubated at 36°C "overnight". From these boards, five colonies were transferred to a tube containing 5 ml of BHI broth which was incubated at 36°C "overnight". Petri dishes with Mueller-Hinton agar were excavated in wells with 5 mm diameter by 3 mm deep. Once adjusted the inoculum density, sowing was performed. The plates were placed in an oven for 30 minutes to dry the surface of the culture medium prior to placement of the cements. The wells were filled with the cements through syringes Luer-Look and the plates were left 2 hours at room temperature for incubation. After, were incubated in bacteriological 36°C, under appropriate weather conditions by 24 hours. The halos of inhibition were measured with the aid of a digital caliper. After the tabulation of the data, the statistical analysis was performed by ANOVA test for global comparison, and Tukey test for individual comparisons, with a significance level of 5%. The results showed values pH close to neutral to all groups in all experimental periods. The release of calcium ions occurred in all groups and in all experimental periods. In relation to antimicrobial activity, none of the presented proportions, in 24 or 48 hours. It is concluded that the association of *Bambusa textilis* to Portland cement retained its pH and release of calcium ions, but not enhanced its antimicrobial activity in front of the *E. faecalis*.

Keywords: Portland cement. pH. Calcium ion release. Antibacterial activity.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	4
2. Objetivos.....	9
3. Material e métodos.....	10
4. Resultados.....	14
5. Discussão.....	15
6. Conclusões.....	21
Referências.....	22
Anexo	28

1.Introdução

A endodontia vem sofrendo um processo de evolução muito grande nos últimos anos. Assim, procedimentos que eram realizados de forma empírica, hoje estão alicerçados em bases científicas, procurando apoiar-se nas respostas biológicas e no conhecimento de como os materiais utilizados nos tratamentos interagem com os tecidos apicais e periapicais (LEONARDO, 2005).

Apesar dessa grande evolução técnico-científica, infelizmente o tratamento endodôntico convencional ainda não possibilita a obtenção do sucesso total. Algumas situações clínicas, como a presença de um instrumento fraturado, perfurações radiculares, calcificações e variações anatômicas severas podem dificultar ou, até mesmo, impossibilitar o sucesso do tratamento endodôntico convencional (BRAMANTE e BERBERT, 2003). Da mesma forma, a possibilidade da existência de biofilmes periapicais ou de alguns outros fatores irritantes pode dificultar o sucesso do tratamento via canal (LEONARDO et al., 2007). Frente a essa situação, o profissional recorre a cirurgia pararendodôntica como último recurso terapêutico (LOPES e SIQUEIRA Jr., 2010).

Alguns materiais já foram propostos como retrobturadores, e, dentre eles, podemos citar o amálgama de prata (MESSING, 1967), a guta-percha (MARCOTTE; DOWSON; ROWE, 1975), os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (GARTNER; DORN, 1992), os cimentos com hidróxido de cálcio (LUIZ, 2002, TANOMARU-FILHO, 1998) e os cimentos à base de Agregado de Trióxido Mineral (TORABINEJAD et al.,1993, HOLLAND et al., 1999, HOLLAND et al., 2002).

Na atualidade, o material mais estudado e mais utilizado em obturações retrógradas é o MTA (Agregado de Trióxido Mineral). Em relação às suas propriedades físico-químicas, o MTA tem demonstrado ser um bom selador marginal (LEE et al., 1993, TORABINEJAD et al., 1993), possui alcalinidade (TORABINEJAD et al.,1995; DUARTE et al., 2003; VASCONCELOS, 2006, VIVAN et al., 2010) e boa radiopacidade (TORABINEJAD et al., 1995; VIVAN et al., 2009). Juntamente com essas excelentes propriedades físico-químicas, o MTA tem proporcionado respostas teciduais com resultados muito semelhantes aos encontrados com o uso do hidróxido de cálcio, inclusive, induzindo a deposição de tecido mineralizado sobre sua superfície. (LUIZ, 2002). Todavia, a dificuldade de sua manipulação fez com que

alguns pesquisadores alterassem sua composição adicionando-lhe outros componentes (CAMILLERI et al., 2010). Aditivos foram incluídos ao MTA visando diminuir seu tempo de presa (BORTOLUZZI, et al., 2006), chegando inclusive ao surgimento do MTA fotopolimerizável. (GOMES-FILHO et al., 2008; VIVAN et al., 2009).

Todavia em 1999, Wucherpfenning e Green publicaram um *abstract*, onde concluíram que o MTA e o cimento Portland eram semelhantes, macro e microscopicamente. Posteriormente a *Dentsply/Tulsa* passou a informar na bula a presença de 75% de cimento Portland, 5% de sulfato de cálcio di-hidratado e 20% de óxido de bismuto. Estrela et al., em 2000, analisaram os elementos químicos do cimento Portland e do MTA e concluíram que o cimento Portland contém os mesmos elementos químicos do MTA, com exceção do óxido de bismuto.

Vivan et al. (2010) avaliaram, dentre outras propriedades, o pH, liberação de íons cálcio e solubilidade de diferentes materiais retrobturadores. Verificaram que o cimento Portland acrescido de 20% de óxido de bismuto e 5% de sulfato de cálcio apresentaram altos valores de pH e liberação de íons cálcio nos períodos iniciais, diminuindo nos períodos finais.

O *E. faecalis* é um coco Gram positivo presente principalmente em casos de insucesso endodôntico que tem mostrado elevada resistência ao Ca(OH)_2 (SANDQVIST et al., 1998; ROÇAS et al., 2004).

Seus fatores de virulência têm sido amplamente estudados. Produzem citolisinas com atividade sobre hemácias humanas, ovinas e de cavalo. A substância de agregação é uma proteína codificada por plasmídeos responsável pela aglutinação dos microrganismos para facilitar a troca entre plasmídeos. As estirpes de *E. faecalis* produzem feromonas, peptídeos capazes de amplificar a transferência de DNA plasmidial por estirpes em processo conjugativo e também de amplificar a resposta inflamatório durante o processo infeccioso (KAYAOGLU & ØRSTAVIK, 2004). O ácido lipoteicóico é, além de adesina, um importante fator de virulência por induzir fator de necrose tumoral (TNF), modulando de forma agressiva a resposta imune. Produzem várias enzimas extracelulares como gelatinase e hialuronidase (KAYAOGLU & ØRSTAVIK, 2004).

A recuperação frequente do *E. faecalis* de canais radiculares com insucesso do tratamento endodôntico tem sido amplamente relatada (SUNDQVIST et al., 1998;

PINHEIRO et al., 2003; RÖÇAS et al. 2003). Demonstram alta resistência a medicamentos usados durante o tratamento e este é um dos poucos microrganismos que tem mostrado *in vitro* resistir ao efeito antibacteriano do Ca(OH)_2 (WEIGER et al., 1995, EVANS et al., 2002).

Evans et al. (2002), verificaram que a resistência desse microrganismo ao Ca(OH)_2 está relacionada a uma bomba de próton. Diante da resistência do *E. faecalis* ao MTA e cimento Portland, tem sido proposta a associação de diferentes substâncias, para potencializar a ação antimicrobiana frente a esse microrganismo.

Há uma busca incessante por agentes fitoterápicos na medicina e odontologia. Dentro da endodontia, busca-se uma substância que potencialize os efeitos biológicos e antimicrobianos do hidróxido de cálcio como curativo de demora. Outras plantas já foram testadas, como a *Artium lappa* (GENTIL et al., 2006), *Pothomorphe umbellata* (GARCIA et al., 2011; MARQUES et al., 2011) e a *Casearia sylvestris* Sw (WECKWERTH et al., 2008; DUARTE et al., 2009).

Algumas espécies de bambus, conforme recente pesquisa científica realizada na China, apresentam propriedades farmacológicas encontradas nas folhas. Além de ação antioxidante, há relatos de efeitos anticarcinogênicos. A referida atividade antioxidante foi atribuída principalmente aos flavonóides e ácidos fenólicos, os quais protegem as células da peroxidação, sendo que esta atividade ocorre principalmente em células mais velhas e/ou células injuriadas. Outra propriedade medicinal dos flavonóides refere-se ao fato de reduzir a inflamação, promover a circulação e inibir reações alérgicas (CUSACK, 1999; DHARMANANDA, 2004). Tem sido relatado, que diferentemente dos outros vegetais, o bambu apresenta elevados níveis de acetilcolina, que consiste em um neurotransmissor de animais e humanos, porém sua ação em vegetais ainda é desconhecida (DHARMANANDA, 2004). Há pesquisas investigando a atividade anti-tumoral de frações de polissacarídeos preparados a partir das folhas do bambu (HIDALGO-LOPEZ, 2003).

No Brasil, algumas espécies de bambus são de ocorrência muito comum, como é o caso da *Bambusa vulgaris*, cujos brotos são considerados estomáquicos, depurativos e antidesintéricos (CORRÊA, 1984), e da *Bambusa bambos*, a qual é utilizada no tratamento de algumas doenças, na forma de extratos fitoterápicos (MASUD RANA; KHANAM; ASAD-UD-DAULA, 2004).

Estudos que vêm sendo relatados e que podem futuramente significar avanço no meio científico são com relação ao poder anti-tumoral desta planta medicinal.

Através de estudos *in vivo*, utilizando camundongos albinos inoculados com o tumor ascítico de Ehrlich, foi comprovada a inibição do crescimento tumoral na faixa de 81,9%. Neste referido estudo foram empregadas doses diárias de 20 mg/kg⁻¹i.p., obtidas a partir do extrato das raízes do vegetal *Bambusa bambos* (MASUD RANA; KHANAM; ASAD-UD-DAULA, 2004).

A espécie vegetal *Bambusa textilis* é nativo da China e caracteriza-se por ser um bambu de médio porte, com colmos que crescem acima de 15 metros de altura, eretos e desprovidos de ramificações, com diâmetro que varia de 3 a 5 cm, e folhas lanceoladas. As folhas podem ser observadas como pequenas e delicadas, porém são capazes de resistir à ação do tempo. Existe ainda pouca informação sobre florescência e frutificação de tal espécie. No país o vegetal é empregado como planta ornamental e utensílios de cozinha, (DRANSFIELD; WIDJAJA; RENUKA, 1995) e também na elaboração de medicamentos, pois se trata de uma fonte importante de resinas, sendo, portanto utilizadas por seu poder anti-inflamatório, anticatarral, anticonvulsivante e antitérmico. As fibras da planta são consideradas fortes e flexíveis, sendo esta planta utilizada para fins de tecelagem. O vegetal descrito possui ainda 8 variedades, Albostriata, Anão, Glabra, Gracilis, Kanapaha, Maculata, Mutabilis e Scranton (AZZINI, CIARAMELLO, 1971; LIESE, 1992; DHARMANANDA, 2004; MEREDITH, 2009).

Não há na literatura relatos sobre a associação do cimento Portland com a *Bambusa textilis*. Sabendo da semelhança do cimento Portland com o MTA, e que esse último apresenta bons resultados físico-químicos, surge a dúvida da possibilidade da associação, com a finalidade de melhorar as atividades antimicrobianas, e a interferência na liberação de íons cálcio e hidroxila. Sabe-se, também, que as respostas biológicas de um material estão na dependência de algumas de suas propriedades físico-químicas. Uma vez que o material apresente um pH compatível com o organismo, liberação de íons cálcio e hidroxila, solubilidade e tempo de presa satisfatórios, e um bom selamento marginal, esse material apresentará boas propriedades biológicas. Diante disso, torna-se necessário a realização de testes físico-químicos para esclarecer e corroborar com os resultados biológicos descritos na literatura.

Muitas foram as tentativas de pesquisadores para se aproximar de um cimento retrobturador ideal, criando alguns ou realizando modificações em outros,

visando à obtenção de determinada propriedade ou a melhoria de outras. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o pH, liberação de íons cálcio e atividade antimicrobiana do cimento Portland associado a *Bambusa textilis* em diferentes proporções.

2. Objetivos

Avaliar o pH (potencial hidrogeniônico), liberação de íons cálcio e atividade antimicrobiana do cimento Portland associado a *Bambusa textilis*, nas seguintes proporções:

GRUPO 1: 3 g Cimento Portland +1,2 ml de *Bambusa textilis*

GRUPO 2: 3 g Cimento Portland + 0,6 ml de água + 0,6 de *Bambusa textilis*

GRUPO 3: 3 g Cimento Portland + 0,9 ml água + 0,3 ml de *Bambusa textilis*

GRUPO 4: 3 g Cimento Portland puro (controle) + 1,2 ml água

GRUPO 5: *Bambusa textilis* (controle): 20microlitros por poço

3. Material e métodos

A composição dos materiais testados apresenta-se na tabela 1.

Tabela 1. Composição química geral do cimento Portland e seu fabricante

Cimento	Composição	Fabricante
Cimento Portland Branco	Silicato tricálcico; silicato dicálcico; aluminato tricálcico; ferroaluminatotetracálcico; sulfato de cálcio dihidratado; óxidos alcalinos; outros constituintes.	Votorantim Cimentos, São Paulo, Brasil.

Análise do pH e liberação de íons cálcio

Para a aferição do pH foram utilizados tubos de polietileno com 10 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Os cimentos foram inseridos no interior das cavidades com o auxílio de calcadores do tipo Paiva até o completo preenchimento. Foram preparados 10 (dez) espécimes para cada grupo. Após o preenchimento, os espécimes foram imediatamente imersos em frascos de vidro contendo 15 mL de água deionizada, que foram vedados e levados à estufa a 37°C, onde permaneceram durante cada período experimental. Para evitar qualquer tipo de interferência nos resultados, toda a vidraria foi previamente tratada com ácido nítrico. As avaliações foram realizadas nos períodos de 3 horas, 24 horas, 72 horas e 168 horas (7 dias) onde, a cada período, os espécimes foram cuidadosamente retirados dos frascos e imersos em um novo tubo com o mesmo volume de água.

Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada por meio de um peagômetro previamente calibrado com soluções de pHs conhecidos (4,7 e 14). O vidro, após a remoção do espécime, foi levado a um agitador onde permaneceu por 5 segundos. Após a agitação, o líquido foi vertido em um Becker e, então, colocado em contato com o eletrodo do equipamento. A aferição do pH foi efetuada com a sala em temperatura de 25°C. A água deionizada foi empregada como controle sendo medido seu pH em todos os períodos de análise.

Determinação da liberação de íons cálcio

Para monitoração dos íons cálcio foi empregado um espectrofotômetro de absorção atômica do laboratório de química da Universidade de São Paulo – USP, equipado com uma lâmpada de cátodo oco específica para o cálcio. As condições de operação foram: corrente da lâmpada: 3miliampères; combustível: acetileno; suporte: oxigênio; estequiometria: redutor. Para o comprimento da onda e fenda foram efetuados testes pilotos para a determinação correta. Para prevenir possíveis interferências de metais alcalinos, foi preparada uma solução de lantânio, diluindo-se 9,8 g de cloreto de lantânio em 250 mL de solução ácida. Uma solução estoque de cálcio foi preparada diluindo-se 2,4972 g de carbonato de cálcio em 50mL de água deionizada. A essa solução foi adicionada, gota a gota, 10mL de ácido clorídrico concentrado. Posteriormente foi diluída em 1000 mL de água deionizada. Após o preparo, 1mL deste preparado correspondia a 1mg de cálcio. Com esta solução, foram preparadas as soluções padrões de cálcio, sendo elas: 20 mg/L, 10 mg/L, 5mg/L, 2.5 mg/L, 1.25 mg/L. Na leitura os 8mL dos padrões ou da água das amostras foram associadas a 2mL da solução de cloreto de lantânio. Para o branco, 6mL de água deionizada foi associada a mesma quantidade (2mL) de solução de cloreto de lantânio. Com os padrões, o branco e as amostras preparadas, foi efetuada a leitura no espectrofotômetro de absorção atômica. Para levar o aparelho a zero de absorbância, foi empregada a solução de ácido nítrico. Os cálculos da liberação foram efetuados por meio da equação da reta da curva padrão. A leitura da liberação de íons cálcio foi efetuada nos mesmos períodos utilizados para a leitura do pH.

Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método da difusão radial

Para o desenvolvimento desta metodologia, foram avaliadas 21 estirpes de *Enterococcus faecalis*, sendo 20 linhagens de campo e 1linhagem ATCC(American Type Culture Collection) 29212, pertencentes à bacterioteca do laboratório de Microbiologia da Universidade do Sagrado Coração – USC, sendo as linhagens de campo, previamente recuperadas por cultura bacteriológica de amostras da cavidade oral de pacientes atendidos no serviço de Endodontia da Clínica de

Odontologia da USC – Bauru – SP. Todas as estirpes encontravam-se congeladas a -20°C e foram isoladas em meio M-Enterococcus ágar (Difco[®]) e identificadas conforme fluxograma de identificação segundo Koneman et al., 2001.

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

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

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

Análise estatística

Com os dados em mãos, os mesmos foram submetidos à análise estatística pelo teste ANOVA para comparação global, e teste de Tukey para comparações individuais, com nível de significância de 5%.

4. Resultados

Com relação a atividade antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis*, nenhum dos grupos apresentou efetividade em 24 ou 48 horas.

Os resultados do pH revelaram valores semelhantes entre todos os grupos experimentais em todos os períodos, conforme apresentado na tabela 2.

Tabela 2. Valores de pH obtidos nos grupos experimentais em todas as variáveis de tempo

pH/horas	3 h	24 h	72 h	168 h
Grupo I	7,47	7,42	7,51	7,57
Grupo II	7,77	7,75	7,68	7,61
Grupo III	7,77	7,75	7,76	7,64
Grupo IV	7,84	7,93	7,86	7,66
Grupo V	-	-	-	-

Os resultados de liberação de íons cálcio mostraram que a liberação ocorreu em todos os grupos e em todos os períodos experimentais, conforme apresentado na tabela 3.

Tabela 3. Valores de liberação de íons cálcio em mg/mL obtidos nos grupos experimentais em todas as variáveis de tempo

Cálcio/ horas	3 Horas	24 Horas	72 Horas	168 Horas
Grupo I	15,73	36,19	12,29	9,53
Grupo II	15,55	6,98	6,20	8,20
Grupo III	3,95	7,78	11,57	7,22
Grupo IV	4,11	24,90	2,44	7,37
Grupo V	-	-	-	-

5. Discussão

Da metodologia

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o pH, liberação de íons cálcio e atividade antimicrobiana do cimento Portland associado a *Bambusa textilis* em diferentes proporções. Quanto ao pH, encontram-se na literatura relatos da determinação desta propriedade tanto *in vivo* (TRONSTAD et al., 1981; ESTRELA; PESCE, 1996) quanto *in vitro* (ANTHONY; GORDON; DEL RIO, 1982; GORDON; ALEXANDER, 1986; TORABINEJAD et al., 1995; BRANDÃO, 1999; DEAL et al., 2002; DUARTE et al., 2003; DUARTE; MORAES; DEMARCHI, 2004; FERREIRA et al., 2004; SANTOS et al., 2005; CHNG et al., 2005; ISLAM; CHNG; YAP, 2006). Sem dúvida, os estudos que avaliam os materiais *in vivo* fornecem resultados mais próximos da realidade, entretanto, as dificuldades de execução e os aspectos éticos têm transformado esses estudos em artigos raros quando se tratam de avaliações de propriedades físico-químicas. No que se refere aos estudos *in vitro*, várias foram as formas descritas para a determinação do pH.

A metodologia empregada, neste estudo, consistiu da imersão dos materiais em solução (água deionizada), porém, acondicionados em tubos de polietileno e, em função dos períodos, determinar o valor do pH por meio de um peagâmetro, realizando-se a cada período a imersão dos corpos de prova sempre em recipientes com solução nova (DUARTE et al., 2004; SANTOS et al., 2005). A utilização deste equipamento é o método mais difundido na literatura (ANTHONY; GORDON; ALEXANDER, 1982; GORDON; ALEXANDER, 1986; TORABINEJAD et al., 1995; BRANDÃO, 1999; DEAL et al., 2002; DUARTE et al., 2003; DUARTE et al., 2004; FERREIRA et al., 2004; SANTOS et al., 2005; CHNG et al., 2005; ISLAM; CHNG; YAP, 2006), entretanto, outros métodos como a utilização de potenciômetro (TAMBURIC; VULETA; OGNJANOVIC, 1993) e até mesmo de corante (STAHELE et al., 1995), também foram relatados. Quanto aos corpos de prova, neste estudo, tubos de polietileno preenchidos com os cimentos foram utilizados de maneira semelhante à descrita por DUARTE et al., em 1999, corroborada por diversos outros trabalhos (DUARTE et al., 1996; BRANDÃO, 1999; DUARTE et al., 2000; DUARTE et al., 2003; DUARTE et al., 2004; FERREIRA et al., 2004; SANTOS et al., 2005).

Por outro lado, outros métodos de avaliação já foram propostos. TORABINEJAD et al., em 1995, após espatularem o cimento, optaram por colocarem-no diretamente na solução, assim como ANTHONY; GORDON; ALEXANDER, em 1982. Entretanto, 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 corpos de prova dos cimentos a serem testados foi proposta por TAGGER; TAGGER; KFIR, em 1988. Todavia, este método apresenta a desvantagem de se poder imergir os corpos de prova na solução, somente após a presa final dos cimentos. Tal procedimento não permite a análise do pH inicial do cimento, além de reduzir a chance de solubilização superficial do material ainda não totalmente endurecido. A determinação do pH diretamente na massa do cimento recém manipulado, por meio de microeletrodos introduzidos no interior da mesma (DEAL et al., 2002; CHNG et al., 2005; ISLAM; CHNG; YAP, 2006), também tem sido descrita na literatura, porém, apesar de preciso, este método, além de não fornecer dados do potencial alcalinizador dos materiais, não permite avaliações a longo prazo. Independente da forma como for desenvolvido o experimento, deve-se ter ciência que comparações entre os resultados das diversas pesquisas podem demonstrar divergências por conta da área de contato dos materiais com o líquido onde se encontraram imersos, tornando difícil a comparação direta dos resultados. Neste estudo, realizou-se a substituição da solução (água deionizada) onde permaneceram imersos os corpos de prova, sempre após cada período de avaliação (TAMBURIC; VULETA; OGNJANOVIC, 1993; DUARTE et al., 1996; BRANDÃO, 1999; DUARTE et al., 2000; DUARTE et al., 2003; SANTOS et al., 2005). No entanto, a renovação da solução onde permaneceram imersos os corpos de prova não é unanimidade entre os autores (ANTHONY; GORDON; DEL RIO, 1982; GORDON; ALEXANDER, 1986; FIDEL et al., 1993; TORABINEJAD et al., 1995; DUARTE et al., 2004; FERREIRA et al., 2004). A diferença entre estes dois métodos é a possibilidade de interpretação dos resultados obtidos. Quando da não renovação do líquido tem-se sempre uma ascendência dos valores, o que facilita a compreensão do desempenho dos materiais ao longo do tempo, enquanto que, quando empregada a renovação, tem-se condições para determinar em que período ocorreu a maior liberação, visto que o pH esta diretamente relacionado com a liberação de íons hidroxila.

Mesmo procurando-se aproximar ao máximo as condições empregadas no experimento com as condições encontradas em clínica, a extrapolação dos resultados para a determinação do que, realmente, ocorre não pode ser realizada, pois, clinicamente existem fatores que podem vir a influir no pH dos materiais, o que, com certeza, implicará na alteração dos valores. Além do pH, outro teste foi realizado, a capacidade de liberação de íons cálcio por parte dos cimentos avaliados. Esta liberação foi determinada em função da concentração de íons cálcio presente nas soluções onde os corpos de prova permaneceram imersos por diferentes períodos de tempo (TAGGER; TAGGER; KFIR, 1988; TAMBURIC; VULETA; OGNJANOVIC, 1993; BRANDÃO, 1999; DUARTE et al., 2000; DUARTE et al., 2003; DUARTE et al., 2004; FERREIRA et al., 2004; SANTOS et al., 2005; LOHBAUER et al., 2005; BOZEMAN; LEMON; ELEAZER, 2006). Além da determinação *in vitro*, ESTRELA; PESCE, em 1996, determinaram *in vivo* a liberação de íons cálcio de pastas por meio da condutometria por titulação de EDTA em tecido subcutâneo de cães. Apesar de representar o método mais próximo de simular a condição clínica, apresenta-se como um método de difícil execução, que, além dos cuidados histotécnicos, ainda necessita de criterioso estudo bioquímico para determinar qual a quantidade real de cálcio que existe nos espécimes como um todo. Utilizou-se corpos de prova preparados pelo preenchimento de tubos de polietileno com os cimentos (BRANDÃO, 1999; DUARTE et al., 2000; DUARTE et al., 2003; DUARTE et al., 2004; FERREIRA et al., 2004; SANTOS et al., 2005). Todavia, na literatura pode-se encontrar relatos de estudos que imergiram corpos de prova formados unicamente pelo material avaliado. A imersão de corpos de prova compostos unicamente pelo material em teste demonstra como principais desvantagens a impossibilidade de imersão antes do endurecimento total do material, e a grande superfície de contato existente entre o material e a solução, o que pode vir a induzir uma maior solubilização do cimento e, conseqüentemente, uma maior dissociação de seus componentes. Como dispositivo para determinação dos íons cálcio em solução, utilizou-se um espectrofotômetro de absorção atômica (SILVA et al., 1997, BRANDÃO, 1999; DUARTE et al., 2000; DUARTE et al., 2003; DUARTE et al., 2004; SANTOS et al., 2005). Contudo, a literatura apresenta relatos da utilização de potenciômetros munidos de eletrodo específico para cálcio (TAGGER; TAGGER; KFIR, 1988; TAMBURIC; VULETA; OGNJANOVIC, 1993), do uso da espectroscopia foto-elétrica (BOZEMAN; LEMON; ELEAZER, 2006) e do

emprego de métodos colorimétricos, baseados na alteração da intensidade de cor de uma reação entre o íon cálcio e um reagente específico (FERREIRA et al., 2004, LOHBAUER et al., 2006). De maneira semelhante à já discutida para a determinação do pH, também, para a avaliação da capacidade de liberação de íons cálcio, existem relatos na literatura da renovação da solução onde os espécimes permaneceram imersos, ou a não renovação desse líquido, permanecendo o espécime na mesma solução durante todos os períodos experimentais. No presente estudo, optou-se por efetuar a renovação das soluções devido à possibilidade da determinação do momento em que ocorreu a redução da liberação dos íons cálcio.

O método de avaliação da atividade antimicrobiana foi o de difusão radial dos materiais em ágar. Este recurso é utilizado na literatura, como um dos testes iniciais para verificar a atividade antimicrobiana dos materiais sobre determinados microrganismos (Miyagak et al., 2006; Ribeiro et al., 2006; Estrela et al., 2000). O espécie *E. faecalis* está frequentemente relacionados a fracassos endodônticos e é utilizada como parâmetro para comparação de materiais (Miyagak et al., 2006; Ribeiro et al., 2006; Estrela et al., 2000; Estrela et al., 2011).

Estrela et al. (2000) não observaram zonas de inibição de crescimento microbiano quando utilizou o cimento Portland cinza. O presente trabalho avaliou o Portland associado a *Bambusa textilis*.

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

Dos resultados obtidos

Quanto ao pH (potencial hidrogeniônico), ou seja, a capacidade de um material liberar íons hidroxila, pode-se verificar que todos os materiais apresentaram capacidade alcalinizadora. TORABINEJAD et al., em 1995, encontraram valores de pH para o Pro Root MTA cinza, às 3 horas, da ordem de 12,5, porém, esses valores foram encontrados após a imersão direta do cimento na solução, fato que, como comentado no tópico anterior, pode alterar sobremaneira os valores e não representa as condições clínicas às quais os materiais são expostos. Outros autores como DEAL et al., em 2002, CHNG et al., em 2005 e ISLAM; CHNG; YAP, em 2006, também encontraram valores de pH bem mais elevados do que os encontrados neste estudo, contudo, esses autores determinaram o pH por meio de micro-eletrodos no interior da massa do cimento durante seu endurecimento. Os resultados encontrados neste estudo corroboram com os encontrados por DUARTE et al., em 2004, SANTOS et al., em 2005, e por VASCONCELOS, em 2006, que, utilizando metodologia semelhante, obtiveram picos de pH próximos a 9,5, sempre encontrados até as primeiras 24 horas de imersão.

DUARTE et al., em 2004, compararam, sob as mesmas condições e nos mesmos períodos avaliados neste experimento, os cimentos Pro Root MTA cinza e MTA-Angelus cinza, encontrando, em todas as avaliações, valores de pH do segundo material sempre superiores aos do primeiro, fato também observado no presente estudo. SANTOS et al., em 2005, compararam, desta feita, os cimentos MTA-Angelus cinza e o MTA-experimental, encontrando semelhança estatística entre os dois materiais em todos os períodos, resultado que também foi encontrado neste estudo, excetuando-se o período de 72 horas de imersão onde o MTA-experimental apresentou valores, consideravelmente, mais baixos que o MTA-Angelus cinza.

Com relação à atividade antimicrobiana, o cimento Portland, não apresentou efetividade frente às bactérias testadas pelo método de difusão radial. Estes achados do cimento Portland puro corroboram com os achados de outros autores (AL-NAZHAN e AL-JUDAI, 2003) que observaram somente ação antifúngica por parte do MTA, que consiste em um material em que o principal componente é o cimento Portland. Já Estrela et al., discordando destes autores, não observaram efetividade do cimento Portland e MTA frente a *Candida albicans*. Deve ser

ressaltado que no trabalho citado foi empregado o cimento Portland cinza e no presente trabalho foi empregado o branco, que apresenta diferença de alguns componentes, como a quantidade de oxido de ferro e aluminato, que pode interferir na ação. Resultados semelhantes frente ao *Staphylococcus aureus* e *E. faecalis* foram observados em outro estudo analisando o MTA (TORABINEJAD et al., 1995) e MTA e cimento Portland (ESTRELA et al., 2000).

6. Conclusões

Baseado na metodologia proposta e nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- a) A associação da *Bambusa textilis* com cimento Portland não influenciou na liberação de íons cálcio.
- b) A associação da *Bambusa textilis* com cimento Portland não influenciou na liberação de íons hidroxila.
- c) A associação da *Bambusa textilis* com cimento Portland não potencializou a atividade antimicrobiana do cimento.

REFERÊNCIAS

- ALFREDO, E.; SILVA, S. R.; OZÓRIO, J. E.; SOUSA-NETO, M. D.; BRUGNERA-JÚNIOR, A.; SILVA-SOUSA, Y. T. Bond strength of AH Plus and Epiphany sealers on root dentine irradiated with 980 nm diode laser. **Int Endod J**, v. 41, n. 9, p. 733-740, 2008.
- ANTHONY, D. R.; GORDON, T. M.; DEL-RIO, C. E. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. **Oral Surg Oral Med Oral Path**, v. 54, n. 5, p. 560-565, 1982.
- AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. **Council on Dental Materials**. Specification #57 for Endodontic Filling Materials. Chicago, p. 147-169, 1984.
- AZZINI A., CIARAMELLO, D. Bambu como matéria-prima para papel IV: Estudos sobre o emprego de cinco espécies de *Bambusa*, na produção de celulose-sulfato. **Bragantia**: Boletim Científico do Instituto Agrônômico do Estado de S. Paulo. Campinas, v. 30, n. 23, 1971.
- BERNABÉ, P. F. E.; HOLLAND, R. Cirurgia paraendodôntica: como praticá-la com embasamento científico. In: ESTRELA, C. **Ciência endodôntica**. São Paulo: Artes Médicas, 2004.
- BORTOLUZZI, E. A. et al. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. **J Endod**, v. 32, n. 9, p. 897-900, 2006.
- BOZEMAN, T. B.; LEMON, R. R.; ELEAZER, P. D. Elemental analysis of crystal precipitate from gray and white MTA. **J Endod**, v. 32, n. 5, p. 425-428, 2006.
- BRAMANTE, C.; BERBERT, A. **Cirurgia paraendodôntica**. 2. ed. Ed. Santos: São Paulo, 2003.
- BUENO, C. E. et al. Study of the bismuth oxide concentration required to provide Portland cement with adequate radiopacity for endodontic use. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 107, n. 1, p. 65-69e, 2009.
- CAMILLERI, J. et al. The constitution of mineral trioxide aggregate. **Dent Mater**, v. 21, n. 4, p. 297-303, 2005.
- CAMILLERI, J. Hydration characteristics of calcium silicate cement with alternatives radiopacifiers used as root-end filling materials. **J Endod**, v. 36, n. 3, p. 502-508, 2010.
- CHNG, H.K. et al. Properties of a new root-end filling material. **J. Endod**, v. 31, n. 9, p. 665-668, 2005.
- CUSACK, V. **Bamboo World: the growing and use of clumping Bamboos**. Australia: Kangaroo Press, 1999.

DAMMASCHKE, T. et al. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white Pro Root MTA and two Portland cements. **Dent Mater**, v. 21, n. 8, p. 731-738, 2005.

DHARMANANDA S. **Bamboo as Medicine Director**, Institute for Traditional Medicine, Portland, Oregon, 2004.

DEAL, B. F. et al. Chemical and physical properties of MTA, Portland cement, and a new experimental material, Fast-Set MTA. **J Endod**, v. 28, n. 3, p. 252, 2002.

DRANSFIELD, S.; WIDJAJA, E. A. **Plant resources of south-east asia**. Bamboos, n. 07, p. 56-58, 1995.

DUARTE, M. A. H. **Avaliação in vitro do poder anti-séptico e pH de cimentos e pastas empregados na prática endodôntica**. Bauru, 1996. 134 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

DUARTE, M. A. H.; DEMARCHI, A. C. C. O.; GIAXA, M. H.; KUGA, M. C.; FRAGA, S. C., SOUZA, L. C. D. de. Evaluation of pH and calcium ion release of three root canal sealers. **J Endod**, v. 26, n. 7, p. 389-390, 2000.

DUARTE, M. A. H.; DEMARCHI, A. C. C. O.; MORAES, I. G. Determination of pH and calcium ion release provided by pure and calcium hydroxide-containing AH Plus. **Int Endod J**, v. 37, n. 1, p. 42-45, 2004.

DUARTE, M. A. H. et al. Radiopacity of Portland cement associated with different radiopacifying agents. **J Endod**, v. 35, n. 5, p. 737-40, 2009.

DUARTE, M.A.H. et al. pH and calcium release of 2 root-end-filling materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 95, n. 3, p. 345-347, 2003.

ESTRELA, C.; PESCE, H.F. 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**, v. 7, n. 1, p. 41-46, 1994.

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

EVANS, M. et al. Mechanism involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int Endod J**, v.35, p.221-228, 2002.

FERREIRA, M. B. et al. Análise de espectrometria de fluorescência de raios-x e difratometria de raios-x dos cimentos MTA, CPM e CPM Sealer. **Braz Oral Res**, v. 19, p. 165, Supplement (Proceedings of the 22^a Annual SBPqO Meeting) 2005. Resumo Pb 065. Apresentado na 22^a Reunião Anual da SBPqO, Águas de Lindóia, set. 2005.

FUNTEAS, U. R.; WALLACE, J. A.; FOCHTMAN, F. W. A comparative analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. **J Endod**, v. 28; n. 3; p. 259; 2002.

GARCIA, L. et al. Biocompatibility assessment of pastes containing Copaiba oilresin, propolis, and calcium hydroxide in the subcutaneous tissue of rats. **J Conserv Dent**, v.14, n.2, p.108-112, 2011.

GARTNER, A. H.; DORN, S.O. Advances in endodontic surgery. **Dent Clin North Am**, v. 36, n. 2, p. 357-378, 1992.

GENTIL, M. et al *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of *Arctiumlappa* as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. **Phytot Res**, v. 20, p.184-186, 2006.

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

GORDON, T.M.; ALEXANDER, J.B. Influence on pH level of two calcium hydroxide root canal sealers in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Path**, v. 6, n. 61, p. 624-628, 1986.

HIDALGO-LOPES, O. **Bamboo: the gift of the gods**. Colômbia: D'Vinni, 2003.

HOLLAND, R. et al. Agregado de trióxido mineral y cement Portland en la obturación de conductos radiculares de perro. **Endodoncia**, v. 19, n. 4, p. 275-280, 2001c.

HOLLAND, R. et al. Calcium salts in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. **J Endod**, v. 28, n. 3, p. 173-176, 2002.

HOLLAND, R. et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. **Braz Dent J**, v. 12, n. 2, p. 109-113, 2001b.

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

HOLLAND, R. et al. Reaction of rat tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. **Braz Dent J**, v. 12, n. 1, p. 3-8, 2001a.

INTERNATIONAL STANDARDS ORGANIZATION. **Dental root canal sealing materials**. Geneve, 1986.

ISLAM, I.; CHNG, H. K.; YAP, A. U. X-ray difracción analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Int Endod J**, v. 39, n. 3, p. 220-225, 2006.

JACOBOVITZ, M.; DE LIMA, R. K. Treatment of inflammatory internal resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. **Int Endod J**, v. 41, n. 10, p. 905-912, 2008.

KAYA OGLU, G.; ØRSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.15, n. 5, p. 308-320, 2004.

LEE, S. J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. sealing ability of a mineral trioxide aggregate of repair of lateral root perforations. **J Endod**, v. 19, n. 11, p. 541-544, 1993.

LEONARDO, M. R.; ROSSI, M. A.; BONIFÁCIO, K. C.; DA SILVA LEA, ASSED S. Scanning electron microscopy of the apical structure of human teeth. **Ultrastruct Pathol**, v.31, n.4. p. 321-325, 2007.

LEONARDO, M.R. **Endodontia: tratamento de canais radiculares**. 4 ed. São Paulo. Artes Médicas, 2005.

LOHBAUER, U.; GAMBARINI, G.; EBERT, J.; DASCH, W.; PETSCHERT, A. Calcium release and pH-characteristics of calcium hydroxide plus points. **Int Endod J**, v. 38, n. 10, p. 683-689, 2005.

LOPES, H.P.; SIQUEIRA, J.F. Jr. **Endodontia. Biologia e Técnica**. 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

LUIZ, M. **Avaliação do reparo apical e periapical em dentes de cães com lesão periapical após obturações retrógrada com diferentes materiais retrobturadores**. 2002. 193p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual de São Paulo, Araraquara, 2002.

MARCOTTE, L. R.; DOWSON, J.; ROWE, N. H. Apical healing with retrofilling materials amalgam and gutta-percha. **J Endod**, v. 2, n. 1, p. 63-65, 1975.

MARQUES, A.A. et al. Morphological analysis of tissue reaction caused by a new endodontic paste in subcutaneous tissue of rats. **J Conserv Dent**, v.14, n.3, p.309-313, 2011.

MASUD RANA, A. Y. K.; KHANAM, J. A.; ASAD-UD-DAULA, M. Antineoplastic screening of some medicinal plants against ehrlich ascites carcinoma in mice. **J Med Sci**, p. 142-145, 2004.

MESSING, J. J. The use of amalgam in endodontic surgery. **J Br Endod Soc**, London, v. 2, n. 1, p. 34-36, 1967.

MIYAGAK, D. C. et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. **Braz Oral Res**, v. 20, p. 303-306, 2006.

NUNES VH, SILVA RG, ALFREDO E, SOUSA-NETO MD, SILVA-SOUSA YT. Adhesion of Epiphany and AH Plus sealers to human root dentin treated with different solutions. **Braz Dent J**, v. 19, n. 1, p. 46-50, 2008.

OLIVEIRA, T. M. et al. Mineral trioxide aggregate as an alternative treatment for intruded permanent teeth, with root resorption and incomplete apex formation. **Dent Traumatol**, v. 24, n. 5, p. 565-568, 2008.

PACE, R.; GIULIANI, V.; PAGAVINO, G. Mineral trioxide aggregate as repair material for furcal perforation: case series. **J Endod**, v. 34, n. 9, p. 1130-1133; 1975.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. **J Endod**, v. 36, n.1, p. 16-27, 2010.

PINHEIRO, E.T. et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **Int Endod J**, v.36, n.1, p.1-11, 2003.

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

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

SAIDON, J. et al. Tissue reaction to implanted mineral trioxide aggregate or Portland cement. **J Endod**, v. 28, n. 3, p. 247, 2002.

SANTOS, A. D.; MORAES, J. C.; ARAUJO, E. B.; YUKIMITU, K.; VALERIO FILHO, W. V. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. **Int Endod J**, v. 38, n. 7, p. 443-447, 2005.

SILVA, G.F.; BOSSO, R.; FERINO, R. V.; TANOMARU-FILHO, M.; BERNARDI, M. I.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; CERRI, P. S. Microparticulated and nanoparticulated zirconium oxide added to calcium silicate cement: evaluation of physicochemical and biological properties. **J Biomed Mater Res A**, v. 102, n. 12, p. 4336-4345, 2014.

SILVA, G.F.; TANOMARU-FILHO, M.; BERNARDI, M. I.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; CERRI, P. S. Niobium pentoxide as radiopacifying agent of calcium silicate-based material: evaluation of physicochemical and biological properties. **Clin Oral Investig**, v. 19, n. 8, p. 2015-2025, 2015.

STAEHLE, H. J.; SPIESS, V.; HEINECKE, A.; MULLER, H. P. Effect of root canal filling materials containing calcium hydroxide on the alkalinity of root dentin. **Endod Dent Traumatol**, v. 11, n. 4, p. 163-169, 1995.

SUNDQVIST, G. et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 85, p. 85-93, 1998.

SRINIVASAN, V.; WATERHOUSE, P.; WHITWORTH, J. Mineral trioxide aggregate in paediatric dentistry. **Int Paediatr Dent**, v. 19, n. 1, p. 34-47, 2009.

TAGGER, M.; TAGGER, E.; KFIR, A. Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. **J Endod**, v. 12, n. 14, p. 588-591, 1988.

TAMBURIC, S. D.; VULETA, G. M.; OGNJANOVIC, J. M. In vitro release of calcium and hydroxyl ions from two types of calcium hydroxide preparation. **Int Endod J**, v. 26, n. 2, p. 125-130, 1993.

TANOMARU-FILHO, M. Capacidade seladora de diferentes cimentos endodônticos em obturações retrógradas. **Rev Fac Odontol Lins**, Lins, v. 2, p. 58-61, 1998.

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

TORABINEJAD, M.; WATSON, T. F.; PITT FORD, T.R. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. **J Endod**, v. 19, n. 12, p. 591-595, 1993.

TRONSTAD, L. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. **J Endod**, n. 1; v. 7; p. 17-21, 1981.

VASCONCELOS, B. C. **Avaliação de algumas propriedades físico-químicas de cimentos retrobturadores à base de agregado trióxido mineral e de um cimento epóxico experimental.** 2006. 162p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2006.

VIVAN, R.R. et al. Evaluation of radiopacity of some commercial and experimental root-end filling materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 108, n. 12, p. 35-38e, 2009.

VIVAN, R.R. et al. Evaluation of the physical and chemical properties of two commercial and three experimental root-end filling materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, Saint Louis, v. 110, n. 2, p. 250-256, 2010.

WECKWERTH, P. H. et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. **Salusvita**, Bauru, v. 27, n. 2, p. 119- 134, 2008.

WEIGER, R. et al. Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. **Endod Dent Traumatol**, v.11, p.15-19, 1995.

WUCHERPFENNING, A. L.; GREEN, D. B. Mineral trioxide vs Portland cement: two biocompatible filling materials. **J Endod**, v. 25, n. 4 p. 308, 1999.

ANEXO

1. Ata de defesa de trabalho de conclusão de curso

**ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Natália Villas Bôas Weckwerth.

Ao dia dez de novembro de dois mil e quinze, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de NATÁLIA VILLAS BÔAS WECKWERTH intitulado: **“Avaliação do pH, liberação de íons cálcio e atividade antimicrobiana do cimento Portland associado a Bambusa textilis em diferentes concentrações.”** Compuseram a banca examinadora os professores Dr. Guilherme Ferreira da Silva (orientador), Dr. Rodrigo Ricci Vivan e Dr. Fernando Accorsi Orosco. Após a exposição oral, a candidata foi arguida pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, Aprovar, com a nota 10,0 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pelo Orientador e pelos demais membros da banca.



Dr. Guilherme Ferreira da Silva (Orientador)



Dr. Rodrigo Ricci Vivan (Avaliador 1)



Dr. Fernando Accorsi Orosco (Avaliador 2)