

**MESTRADO**

**MARCIA CHRISTINA ANDRÉ MOREIRA NACIF**

**ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE  
CONES DE GUTA-PERCHA EM USO CLÍNICO  
E DE CONES DE PAPEL ABSORVENTE**

**2010**



**Estácio**

Mestrado em Odontologia  
Av. Alfredo Baltazar da Silveira 580 cobertura  
22790-710 - Rio de Janeiro, RJ  
Tel/Fax: (0xx21) 2497-8988

MARCIA CHRISTINA ANDRÉ MOREIRA NACIF

ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE  
CONES DE GUTA-PERCHA EM USO CLÍNICO  
E EM CONES DE PAPEL ABSORVENTE

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Odontologia da  
Universidade Estácio de Sá,  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre em  
Odontologia (Endodontia).

Orientador:

Prof. Dr. Flávio Rodrigues Ferreira Alves

UNIVERSIDADE ESTÁCIO DE SÁ  
RIO DE JANEIRO  
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Universidade Estácio de Sá, Biblioteca, RJ)

N176a Nacif, Marcia Christina André Moreira.  
Análise da contaminação microbiana de cones de  
*guta-percha* em uso clínico e em cones de papel  
absorventes. / Marcia Christina André Moreira Nacif. – Rio  
de Janeiro, 2010.

107 f. ; 30 cm.

**Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade  
Estácio de Sá, 2010.**

Referências: f. 68.

1. Endodontia - Contaminação. 2. Cones – Guta-Percha – Papel Absorvente. Título.

000 017 0010

## DEDICATÓRIA

---

A meu esposo, José Carlos, pelo amor incondicional, dedicação, paciência e incentivo contínuo para concretização deste sonho tão aguardado.

A meu pai, *in memoriam*.

## **AGRADECIMENTOS**

---

**A Deus, A grande Alma do Universo.**

**Ao meu orientador Professor Doutor Flávio Rodrigues Ferreira Alves pela confiança depositada, o incentivo constante, carinho, paciência e generosidade com que sempre fui recepcionada.**

**A toda equipe de Coordenação e Corpo Docente do Curso de Mestrado da Universidade Estácio de Sá, representados na pessoa do Professor Doutor José Freitas de Siqueira Júnior, pela dedicação, estímulo e conhecimentos transmitidos.**

**Ao querido colega de turma, Bernardo Mattos Almeida pelo companheirismo, respeito e confiança e pela feliz parceria.**

**Aos colegas de Mestrado minha gratidão pelo convívio alegre e camarada.**

**A querida colega e amiga Bianca Poncioni pela inestimável colaboração e apoio.**

**Um agradecimento especial a grande amiga Angélica Pedrosa pela amizade, carinho, eficiência e atenção com que me agraciou neste agradável e inesquecível convívio.**

**Sr. Marlei pelo apoio e disponibilidade em ensinar dentro e fora do laboratório.**

**Aos amigos do passado e presente que torceram e torcem por mim.**

## ÍNDICE

---

	Pág.
RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE TABELAS .....	xiii
INTRODUÇÃO .....	01
REVISÃO DE LITERATURA .....	05
Cones de papel absorvente .....	11
Cones de guta-percha .....	19
Esterilização rápida de cones de guta-percha .....	28
PROPOSIÇÃO .....	37
MATERIAIS E MÉTODOS	
Experimento I - cones de guta-percha .....	38
Experimento II - cones de papel absorvente .....	44
RESULTADOS	
Experimento I – cones de guta-percha .....	50
Experimento II – cones de papel absorvente .....	55
DISCUSSÃO .....	57
CONCLUSÃO .....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	69

## ANEXOS

ANEXO I – Composição do caldo de tioglicolato .....	78
ANEXO II – Composição do Ágar CLED e Tabela indicando a morfologia típica das colônias no Ágar CLED .....	79
ANEXO III – Composição do caldo TSB .....	80
ANEXO IV – Composição do Ágar EMB-TEAGUE .....	81
ANEXO V – Composição do Ágar sangue de carneiro .....	82
ANEXO VI – Telegrama enviado a Endopoints .....	83
ANEXO VII – Resposta da Endopoints .....	84
ANEXO VIII – Artigo enviado para publicação .....	85
ANEXO IX – Aceite do artigo para publicação .....	97

## RESUMO

---

Durante os tratamentos endodônticos, toda substância, instrumental ou medicamento inseridos no interior dos canais radiculares devem estar isentos de micro-organismos. Este estudo se propôs a fazer uma avaliação microbiológica da contaminação de cones de guta-percha em uso clínico, verificando se existe diferença significativa nas amostras provenientes de clínicos e especialistas, e também de cones de papel absorvente de diferentes marcas comerciais, caso presente. Foram avaliadas amostras de quinze caixas de cones de guta-percha fornecidas por dentistas clínicos e quinze caixas, por especialistas em Endodontia. Todas as embalagens já estavam em uso clínico. Os cones de papel absorvente tiveram três marcas comerciais testadas: Dentsply, Endopoints e Roeko, e foram analisados cones provenientes de embalagens lacradas, denominadas esterilizadas. De ambos materiais, 186 cones de guta-percha e 114 cones de papel foram transferidos para tubos contendo caldo de tioglicolato e triptcaseína de soja (TSB), respectivamente e mantidos em estufa bacteriológica a 37°C em aerobiose, por diferentes períodos de tempo. As amostras de cones de guta-percha que evidenciaram turbidez foram transferidas para placas de ágar CLED, e submetidas à coloração pelo método Gram. Já as amostras de cones de papel absorvente que evidenciaram turbidez foram semeadas em placas de ágar eosina-azul de metileno (EMB) e ágar sangue de carneiro. Nas amostras de cones de guta-percha, onde a contaminação microbiana foi verificada, o método Gram evidenciou a presença de cocos e bacilos Gram positivos, bacilos Gram negativos e fungos. Das 30 caixas de cones de guta-percha acessórios examinadas 9 (30%) apresentaram contaminação bacteriana, sendo 4 (13%) caixas provenientes de clínicos e 5 (17%) de especialistas em Endodontia. Não foi verificada diferença significativa no índice de contaminação dos cones de guta-percha em relação à sua proveniência ( $p>0,05$ ). Dentre as marcas de cones de papel absorvente avaliadas, Dentsply e Roeko não exibiram contaminação. A marca Endopoints evidenciou contaminação em todas as amostras examinadas.

Palavras chave: Cones de guta-percha, cones de papel absorvente, contaminantes.

## ABSTRACT

---

During endodontic treatments every substance, instrument or medicine inserted in the root canals must be free of microorganisms. The object of this study is to do a microbiological evaluation of the contamination of gutta-percha cones in clinical use, to verify if there is a significant difference in the samples proceeding from clinical dentists and endodontic specialist, and also to analyze different commercial brands of absorbent paper cones, if they are present. Samples from fifteen boxes of gutta-percha cones provided by clinical dentists and endodontic specialists were tested. All the packages were already being clinically used. Three commercial brands of absorbent paper cones were tested: Dentsply, Endopoints and Roeko, and the cones tested came from sealed packages, labeled sterile. 186 gutta-percha cones and 114 paper cones were transferred to test tubes containing thioglycolate broth and tryptcase soy, respectively, and kept in a bacterial incubator at 37° C in aerobiosis, for varying periods of time. The gutta-percha samples which showed cloudiness were transferred to CLED agar plates and the Gram staining method test was performed. The absorbent paper cone samples that presented cloudiness were seeded in eosin blue-methylene agar plates. In the gutta-percha cones where microbial contamination was present, the Gram method showed the presence of Gram positive cocci and bacilli, Gram negative bacilli and fungi. Amongst the 30 boxes of gutta-percha cones tested, 9 (30%) showed bacterial contamination in the cones tested. 4 (13%) of those coming from clinical dentists and 5 (17%) coming from endodontic specialists. There was no significant difference in the level of contamination of the cones in relation to their origin ( $p>0,05$ ). Of all the absorbent paper cone brands analyzed, Dentsply and Roeko did not present contamination. The brand Endopoints presented contamination in all the samples analyzed.

Keywords: Gutta-percha cones, absorbent paper cones, contaminants.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

ufc	unidades formadoras de colônias
NaOCl	hipoclorito de sódio
Ca(OH) <sub>2</sub>	hidróxido de cálcio
CHX	clorexidina
ATCC	<b>American Type Culture Collection</b>
ZnO	óxido de zinco
PVP-I	iodeto de polivinilpirrolidona
EMB	Eosina/Azul de Metileno
TSB	Caldo peptona de caseína e soja

## LISTA DE FIGURAS

---

	Pág.
<b>Figura 1</b> - Caixa de cones de guta-percha inserida em envelope grau cirúrgico previamente esterilizado.....	38
<b>Figura 2</b> – Aspecto da câmara de fluxo laminar com cabine de proteção biológica na qual foram manipuladas as amostras .....	39
<b>Figura 3</b> - Transferência dos cones de guta-percha para o meio de tioglicolato.	40
<b>Figura 4</b> – Aspecto da coleta de cones de papel absorvente e deposição em tubo contendo caldo TSB.....	45
<b>Figura 5</b> - Armazenagem das amostras em estufa bacteriológica a 37°C.....	46
<b>Figura 6</b> - Tubo exibindo ausência de crescimento bacteriano no controle negativo e tubo sugerindo contaminação dos cones de papel .....	47
<b>Figura 7</b> - Placas de ágar CLED. Em <b>A</b> e <b>B</b> , placas de ágar evidenciando crescimento bacteriano nas amostras provenientes das caixas de cones de nº 20 e 28. Em <b>C</b> , controle positivo exibindo crescimento e em <b>D</b> , controle negativo exibindo apenas precipitação de água na tampa.....	50

**Figura 8** - Aspecto de tubos sugerindo contaminação dos cones no controle positivo (C+) e na amostra proveniente da caixa nº 23 (tubo do centro), assim como ausência de crescimento bacteriano no controle negativo (C-) ..... 53

**Figura 9** – Aspecto de tubos exibindo controle negativo, turbidez no controle positivo (+), e ausência de contaminação bacteriana nos demais tubos ..... 55

## LISTA DE TABELAS

---

Pág.

<b>Tabela 1</b> - Distribuição dos grupos por quantidade de cones de guta-percha, origem, repetições, nº de tubos/testes na avaliação qualitativa.....	42
<b>Tabela 2</b> – Marcas, lotes de cones de papel avaliados e numeração dos tubos teste.....	45
<b>Tabela 3</b> - Distribuição dos grupos por quantidade de cones de papel, origem, repetições e tubos/teste .....	48
<b>Tabela 4</b> - Relação das amostras, presença de turbidez e confirmação da contaminação microbiana através do método de Gram por caixa testada .....	51
<b>Tabela 5</b> - Tabela de contingência indicando a quantidade de amostras com e sem contaminação, de acordo com a procedência.....	53

## INTRODUÇÃO

---

O tratamento endodôntico visa a eliminação dos micro-organismos do sistema de canais radiculares, assim como, tem por objetivo impedir que novos patógenos venham nele se estabelecer. Estes micro-organismos podem ser oriundos de uma infecção já estabelecida primariamente, ou podem ser introduzidos por manipulações endodônticas, ou mesmo, por inadequação de um selamento coronário.

A obturação dos canais é a fase que busca coroar a terapêutica endodôntica, visando o preenchimento total dos canais radiculares, de modo a sepultar os micro-organismos que porventura tenham sobrevivido a todo o processo de desinfecção proporcionado pelo preparo químico, mecânico e medicamentoso, e impedir o acesso das bactérias remanescentes aos tecidos perirradiculares e a nutrientes. Por conseguinte, é primordial que os instrumentos e materiais introduzidos para o interior do sistema de canais radiculares não contribuam para a reinfecção, instalação, ou mesmo para a persistência de patologias endodônticas (LEONARDO *et al.*, 1997a). Portanto, cones de papel absorvente e cones de guta-percha devem estar livres de contaminação microbiana no momento de sua utilização.

A literatura aponta que os cones de papel absorvente e cones de guta-percha, mesmo que utilizados a partir de caixas lacradas, podem ou não estar estéreis (LEONARDO *et al.*, 1997b; SÓ *et al.*, 2000; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; GOMES *et al.*, 2005; PEREIRA, 2008; KAYAOGLU *et al.*, 2009), e a contaminação

poderá ocorrer principalmente, com a manipulação continuada das embalagens destes materiais, quer pela exposição ao meio ambiente, quer pelo manuseio inadequado destes materiais pelo profissional, ou também através de contaminação acidental. A necessidade de esterilização dos cones de papel absorvente e de guta-percha antes de sua inserção nos canais radiculares é recomendada pela literatura endodôntica, embora a incidência de contaminação permaneça conflitante (SIQUEIRA *et al.*, 1998; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; GOMES *et al.*, 2005; OZALP *et al.*, 2006; ROYAL *et al.*, 2007; KAYAOGLU *et al.*, 2009). A umidade no interior dos canais radiculares poderá agir como obstáculo a um perfeito selamento pelo material obturador (HABITANTE *et al.*, 1995), portanto, quanto aos cones de papel portanto, a inserção de cones de papel absorvente é o método mais indicado para obtenção de um ambiente seco, sendo o último material a ser inserido nos canais após o preparo químico e mecânico, antecedendo a obturação dos canais radiculares, contribuindo então, diretamente para o resultado da mesma.

Dentre os materiais utilizados para a obturação dos canais radiculares a guta-percha foi introduzida na Odontologia há mais de um século, sendo até o momento o material mais utilizado. Respeitando vários requisitos indispensáveis a um bom material obturador e sendo bem tolerada pelos tecidos perirradiculares, é apresentada em forma de cones calibrados padronizados, de cones acessórios utilizados como principais ou acessórios, *pellets* e em bastões. Entre os componentes inorgânicos, o óxido de zinco contribui para a composição dos cones de guta-percha entre 59% a 75,3%, o que lhes confere propriedades antimicrobianas (MOORER & GENET, 1982). As chances de sucesso do

tratamento endodôntico tornam-se maiores quando a infecção intracanal é erradicada de maneira efetiva antes da obturação do sistema de canais radiculares. Estudos indicaram que cones de guta-percha disponíveis comercialmente podem estar contaminados com micro-organismos (MONTGOMERY, 1971). Por conseguinte, a maioria dos autores recomenda sua esterilização antes da obturação dos canais radiculares (SIQUEIRA *et al.*, 1998; DA MOTTA *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2005). Contudo, tais cones, por serem sensíveis ao calor, não podem ser submetidos à esterilização por autoclave ou a altas temperaturas (SIQUEIRA *et al.*, 1998), uma vez que tais métodos causariam deformações físicas (GAHYVA & SIQUEIRA, 2001). Inúmeros métodos de descontaminação de cones de guta-percha são apresentados pela literatura, como: paraformaldeído (DE SOUZA *et al.*, 2003; NUNES *et al.*, 2005; ALBERGARIA *et al.*, 2007), clorexidina (SIQUEIRA *et al.*, 1998; LUI *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2005; COLETTI *et al.*, 2006; PANG *et al.*, 2007), álcool etílico (SIQUEIRA *et al.*, 1998), iodeto de polivinilpirrolidona (KOTAKA *et al.*, 1998; DE SOUZA *et al.*, 2003) hipoclorito de sódio (KOTAKA *et al.*, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 1998; CARDOSO *et al.*, 1999; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; DA MOTTA *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2005; OZALP *et al.*, 2006; COLETTI, 2006; ROYAL *et al.*, 2007; PANG *et al.*, 2007) glutaraldeído (SIQUEIRA *et al.*, 1998; DA MOTTA *et al.*, 2001), feixe de elétrons (*electron beam*) (ATTIN *et al.*, 2001), entre outros. Na prática endodôntica, o profissional não tem como constatar a presença de contaminação microbiana nos cones de papel e de guta-percha. Portanto, é importante que os cones fornecidos pelo fabricante sejam estéreis ou facilmente esterilizados antes de seu uso, para que novos micro-organismos não sejam

levados ao canal e possam, assim, causar uma infecção secundária que colocaria em risco o sucesso do tratamento.

## REVISÃO DE LITERATURA

---

O objetivo do tratamento endodôntico é a eliminação da infecção microbiana, e o sucesso no tratamento da patologia de origem endodôntica depende do controle de micro-organismos no sistema de canais radiculares. Um entendimento minucioso da microbiota das infecções endodônticas é fundamental para lograr êxito nesta terapia.

Através dos tempos, estudos ajudaram a estabelecer as bases da Endodontia contemporânea, associando a invasão microbiana às patologias pulpares e perirradiculares.

MILLER (1894) associou bactérias com as doenças endodônticas, avaliando esfregaço de material coletado de canais infectados através de exame de bacterioscopia, relatando a presença de cocos, bacilos e espiroquetas, e descrevendo a microbiota do segmento coronário, médio e apical do canal radicular. Entretanto a relação causa-efeito só pôde ser comprovada cerca de 71 anos após.

O estudo de KAKEHASHI *et al.* (1965) confirmou o trabalho de Miller, utilizando ratos *germ-free* e ratos convencionais, que tiveram suas polpas dentárias expostas à cavidade bucal e examinadas histologicamente após diferentes períodos de tempo. Ficou evidenciado que apenas os ratos convencionais desenvolveram inflamação e necrose pulpar seguidas pelo estabelecimento de patologias perirradiculares com o tempo, enquanto que nos

ratos *germ free* ocorreu o reparo do tecido pulpar, e a deposição de dentina reacional no local exposto.

SUNDQVIST (1976) utilizou técnicas avançadas de cultura em anaerobiose, para avaliar a composição da microbiota de canais radiculares infectados e indicar os patógenos relacionados a estas infecções. Seus resultados revelaram que bactérias foram encontradas apenas nos canais de dentes que apresentaram evidências radiográficas de periodontite apical, confirmando a etiologia microbiana das patologias endodônticas. Dos micro-organismos isolados, 90% eram bactérias anaeróbias estritas.

MÖLLER *et al.* (1981) demonstraram em macacos que somente polpas infectadas induziram às lesões perirradiculares, evidenciando que polpas necrosadas apenas, *per si*, não são capazes de induzir ou manter uma lesão perirradicular.

Estudos têm evidenciado que micro-organismos e seus produtos estão associados aos casos de insucesso do tratamento endodôntico e à persistência de patologias perirradiculares (ENGSTRÖN, 1964; SUNDQVIST *et al.*, 1998), sendo considerados como agentes etiológicos primários da necrose pulpar e das periodontites apicais (KAKEHASHI *et al.* 1965; SUNDQVIST, 1976). Embora fatores não microbianos possam concorrer para o insucesso do tratamento endodôntico, a literatura reporta que infecções persistentes no interior dos canais ou infecções secundárias são as principais causas do insucesso endodôntico (SUNDQVIST *et al.*, 1998; SIQUEIRA, 2001). Desta forma, há que se atentar para a presença de micro-organismos no interior da estrutura dental: câmara pulpar, canal radicular, sistema de canais radiculares, túbulos dentinários, como também,

substâncias tóxicas microbianas com potencial ação antigênica (VIANNA *et al.*, 2007).

AAS *et al.* (2005) relataram que estudos utilizando métodos moleculares de cultura independente evidenciaram mais de 700 espécies bacterianas ou filotipos presentes na cavidade oral, dos quais mais de 50% ainda não são cultiváveis em laboratório. A microbiota oral apresenta um grande número de espécies, mas apenas um número restrito tem a capacidade de invadir, colonizar e sobreviver no interior do sistema de canais radiculares (SIQUEIRA, 2002). Os fatores que definem a composição desta microbiota são determinados pelas interações microbiológicas e oferta de nutrientes e disponibilidade de oxigênio (SUNDQVIST *et al.*, 1998; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b).

As infecções endodônticas podem ser classificadas de acordo com o tempo em que ocorre a invasão dos micro-organismos no sistema de canais radiculares (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008a). No início, um número reduzido de espécies invade e coloniza o tecido pulpar, caracterizando a infecção primária. Se a invasão ocorre por processo carioso, então as bactérias cariogênicas contidas no biofilme ocuparão primeiramente o tecido pulpar. A composição da microbiota na infecção primária é caracterizada por um consórcio microbiano misto que pode compreender de 10 a 30 espécies bacterianas por canal, e de  $10^3$  a  $10^8$  células por canal, dependendo de fatores como tensão de oxigênio, disponibilidade de nutrientes, assim como as interações microbianas. A periodontite apical primária apresenta, portanto, uma etiologia heterogênea; e uma única espécie somente não pode ser indicada como patógeno endodôntico principal, podendo ocorrer várias combinações que desempenham ação direta na causa da doença

(SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b). A infecção pós-tratamento está caracterizada pela presença de micro-organismos que invadiram o sistema de canais radiculares num segundo momento (infecção secundária), ou porque resistiram ao protocolo da terapia endodôntica (infecção persistente). Evidências indiretas apontam que a infecção persistente é a causa mais comum das falhas endodônticas (SIQUEIRA, 2001; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b). O processo de seleção poderá ser dependente da resistência dos micro-organismos às medidas terapêuticas antibacterianas, ou da habilidade específica de alguns micro-organismos sobreviverem em ambientes com restrição nutricional (SUNDQVIST *et al.*, 1998).

A dinâmica da colonização microbiana nos canais radiculares foi avaliada por FABRICIUS *et al.*, 1982, em estudo realizado em macacos. Oito dentes de três macacos, num total de 24 canais radiculares, tiveram o tecido pulpar mecanicamente desvitalizado e exposto à microbiota bucal por 1 semana, sendo depois selados. Análises microbiológicas foram realizadas após 7 dias e foram encontrados micro-organismos Gram positivos e Gram negativos, anaeróbios facultativos. Foram observados, também, em períodos de 90, 180 e 1060 dias. No final de cada período analisado, amostras microbiológicas foram coletadas, incluindo micro-organismos do canal principal, dentina e região apical. No período de 3 a 6 meses, foi observada a presença de anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos no ápice radicular e dentina. As amostras finais da região apical mostraram a predominância de anaeróbios estritos (85-90%), principalmente bacilos Gram positivos.

Estão entre os principais objetivos de um tratamento endodôntico: a remoção de material orgânico pulpar, a limpeza, a desinfecção do sistema, a

modelagem e a obturação do sistema de canais radiculares nas três dimensões, visando impedir a reinfecção deste espaço (TORABINEJAD *et al.*, 2005). Prevenir a introdução de novos micro-organismos nos canais radiculares é, também, tão importante quanto eliminar aqueles que lá se encontram (GAHYVA & SIQUEIRA, 2001).

De acordo com LEONARDO *et al.* (1997a,b), instrumentos endodônticos contaminados podem carrear micro-organismos para o interior dos canais que, juntamente com seus produtos metabólicos, podem ser responsáveis pelo desenvolvimento e/ou persistência de patologias endodônticas. Pontas de papel absorvente e cones de guta-percha ficam muito próximos do contato com os tecidos perirradiculares. Desta forma, tanto cones de papel absorvente, quanto os cones de guta-percha utilizados para obturação dos canais devem estar livres da presença de micro-organismos no momento de sua utilização (SIQUEIRA *et al.*, 1998).

A prevenção da contaminação endodôntica exige um rígido controle da assepsia. O intuito é impedir o acesso de patógenos durante o tratamento endodôntico e seu estabelecimento no sistema de canais radiculares, que pode ocorrer durante a intervenção clínica, entre as consultas, após o término do tratamento, ou mesmo oriundo de um selamento coronário deficiente. A falha no controle e na diminuição da carga microbiana, ou na eliminação da infecção são fatores que concorrem para o insucesso da terapia endodôntica (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b).

Micro-organismos presentes nos canais de dentes endodônticamente manipulados podem ser oriundos de uma infecção original no sistema de canais

radiculares (SIQUEIRA, 2001; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008a), carreados para o canal durante a intervenção endodôntica, ou através de um selamento coronário inadequado (SIQUEIRA, 2001; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008a).

Na fase de obturação, a umidade no interior do sistema de canais radiculares pode agir como fator impeditivo à qualidade seladora marginal do material obturador (HABITANTE *et al.*, 1995, KUBO *et al.*, 1999a,b). Vários métodos de secagem dos canais radiculares têm sido preconizados: soluções alcoólicas (WILCOX & WIEMANN, 1995), cânulas de aspiração associadas a papel absorvente (HABITANTE *et al.*, 1995) e cones de papel absorvente (LEONARDO & LEAL, 1998). Dentre estes métodos, o uso de cones absorvente é o mais utilizado com a finalidade de obtenção de um ambiente mais seco, sendo também aplicado para coleta de amostras para cultivo microbiano e introdução de medicação intracanal (EDWARDS & BANDYOPADHYAY, 1981; PÉCORRA *et al.*, 1988).

O objetivo da obturação é conseguir um perfeito selamento do canal radicular, de modo a impedir o acesso das bactérias remanescentes aos tecidos perirradiculares e, conseqüentemente, a nutrientes, preenchendo espaços que contribuem para o contínuo crescimento microbiano. O preenchimento radicular visa, também, sepultar as bactérias que porventura resistiram aos procedimentos da terapêutica endodôntica, uma vez que estas podem sustentar uma inflamação perirradicular (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b). A manutenção da inflamação perirradicular em canais tratados está relacionada à persistência de bactérias desde o primeiro tratamento, ou pode ser conseqüência da introdução de novos micro-organismos (SIQUEIRA *et al.*, 2001; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008).

Instrumentos contaminados podem introduzir micro-organismos para o interior dos canais, podendo contribuir para a instalação e persistência de patologias endodônticas (LEONARDO *et al.*, 1997 a, b; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001). Cones de guta-percha e cones de papel absorvente devem, portanto, estar livres da presença de micro-organismos no momento de sua utilização (LEONARDO *et al.* 1997a).

Muitas vezes, apesar da atenção à limpeza e desinfecção dos canais radiculares, cones de papel e cones de guta-percha são removidos diretamente de suas embalagens e inseridos nos canais. (REF)

### **Cones de papel absorvente**

Utilizados comumente na terapia endodôntica, os cones de papel são o último material inserido nos canais após o preparo químico e mecânico e antes da fase da obturação dos canais radiculares, contribuindo, assim, para o resultado desta última, uma vez que promove a secagem dos mesmos.

A presença de umidade, após o processo de desinfecção proporcionado pelo preparo químico, mecânico e medicamentoso, poderá interferir no perfeito selamento apical, comprometendo o sucesso do tratamento endodôntico (HABITANTE, 1995). Na clínica endodôntica, atualmente, os cones de papel representam o método mais utilizado para a remoção de umidade do sistema de canais radiculares (Pécora *et al.*, 1988).

Pontas de papel devem ser usadas estéreis na secagem dos canais, e se destinam às seguintes aplicações: antes da obturação, na introdução de

medicamentos, contenção de hemorragia, absorção de exsudato, e tomada de amostras para cultivo microbiológico (EDWARDS & BANDYOPADHYAY, 1981).

A esterilização de cones de papel absorvente e guta-percha através de vapores de formaldeído foi avaliada por BUCHBINDER (1966), comprovando ser, um método simples, barato, efetivo e, naquele momento, seguro.

EDWARDS & BANDYOPADHYAY, 1981, delinearam métodos para testar as propriedades físicas e mecânicas consideradas importantes para o uso clínico adequado das pontas de papel. Afirmaram que as propriedades e características desejáveis aos cones de papel são: que sejam rapidamente absorventes, que, quando saturados, apresentem rigidez para serem inseridos e removidos sem deformar ou dobrar sob seu próprio peso; que, quando secos, também apresentem rigidez, comprimento uniforme, taper e tamanho correspondendo as especificações da *International Organization of Standardization* (ISO). Em resumo, devem apresentar integridade suficiente estando secos ou molhados. Além disso, não devem liberar fibras ou resíduos durante o uso e quando submetidos à esterilização por métodos convencionais suas outras propriedades não sejam alteradas; devendo ser brancos e livres de odor. Em cada uma das propriedades e características, o estudo revelou grande variação entre os diferentes fabricantes. Nenhuma marca comercial testada apresentou todo o conjunto de propriedades requisitadas.

Quatro marcas comerciais de cones de papel foram testadas por ORSTAVICK & MÖLLER (1985) quanto a sua esterilidade e atividade antimicrobiana; os testes de esterilidade seguiram os padrões propostos pela ISO. Os produtos testados foram: *Absorbent points sterile* (Johnson & Johnson-

USA); *Pappersspetsar* (Johnson & Johnson-Suécia); *Absorbent paper points sterilized* (A/S Norsk Dental Depot-Noruega) e *Absorbent paper points 'PD'* (Produits Dentaire S.A.-Suíça). Os autores não evidenciaram crescimento microbiano em qualquer amostra. Um pequeno halo de inibição ficou evidenciado pela marca Produits Dentaire.

A atividade antibacteriana de cones de papel absorvente foi testada por RAWLE *et al.*, 1985 nas marcas Kerr/Sybron, Johnson & Johnson, Produits Dentaire e Endic, onde não evidenciaram contaminação. Nas marcas Kerr/Sybron; Johnson & Johnson e Produtos Dentaire não houve zona de inibição, com exceção da marca Endic que exibiu atividade antibacteriana comprovada contra micro-organismos do biofilme dental.

PÉCORA *et al.* (1988), com a intenção de conseguir o maior aproveitamento e eficiência na etapa de secagem, objetivaram determinar o número e o tempo de permanência de cones de papel absorvente no interior do canal radicular e a influência da aspiração final na secagem, concluindo que a aspiração na região cervical do canal radicular por 5s reduz em 50% o número de cones necessários para secá-lo; se a aspiração for realizada no interior do canal radicular pelo mesmo período de tempo, o número de cones de papel é reduzido drasticamente. Os autores ressaltaram que, por haver diferentes fabricantes, poderá ocorrer variação na fabricação quanto à uniformidade, ou quanto ao papel; alterando a capacidade de absorção dos líquidos no interior do canal radicular.

KOPPANG *et al.* (1989) identificaram a presença de fibras de celulose, muito provavelmente originárias de pontas de papel absorvente submetidas a

processo de esterilização a altas temperaturas, como sendo responsáveis pelo início e manutenção de lesões perirradiculares pós-tratamento endodôntico.

HOLLAND *et al.* (1991) avaliaram a alteração das propriedades físicas dos cones de papel absorvente após métodos de esterilização, confirmando a diminuição da capacidade destes após o processamento em autoclave.

Amostras de pontas de papel retiradas de embalagens lacradas foram avaliadas por LEONARDO *et al.* (1997b) num total de 96 cones de papel absorvente das marcas: Tanari (embalagem sortida e individual); Conne e Odahcan. Foi utilizado meio de tioglicolato (Difco-Brasil), e os cones foram incubados por 20 dias a 37°C em estufa bacteriológica. Todas as amostras exibiram contaminação. A marca Tanari apresentou contaminação de 70,8% dos cones, na embalagem sortida, e 66,6% na individual. Nas amostras das marcas Odahcan e Conne a contaminação foi de 4,2%. Foi sugerido pelos autores que os cones de papel deveriam ser esterilizados antes de sua utilização.

Avaliação realizada por SÓ *et al.* (2000), analisaram 5 marcas de cones de papel absorvente obtidas em caixas lacradas das seguintes marcas: Tanari, Roeko, Dentsply, Herpo e Conne. As amostras foram inseridas em meio de tioglicolato (Oxoid-England) e mantidas por 14 dias em estufa a 35°C. Os cones das marcas Roeko (1ª e 2ª séries) e Dentsply (1ª série) não mostraram contaminação. Os cones da Dentsply (2ª série) exibiram 100% de contaminação. A marca Conne (1ª e 2ª séries) e Herpo (1ª série) evidenciaram 6,7%, enquanto que a Herpo (2ª série) evidenciou contaminação de 20%. Os cones da marca Tanari (1ª série) mostraram 66,7% de contaminação.

KUBO *et al.*, 1999, em dois estudos, avaliaram a influência do número de esterilizações sobre a capacidade e velocidade de absorção de cones de papel das seguintes marcas: Conne, Tanari e Diadent. No primeiro experimento, os cones foram submetidos à esterilização em estufa. A pesquisa revelou que a esterilização sucessiva sob calor seco promoveu alterações estruturais que interferiram na velocidade e capacidade de absorção das amostras avaliadas. Ao submeterem, no segundo experimento, as mesmas marcas à autoclavagem, os autores observaram que as três marcas comerciais avaliadas se comportaram diferentemente quanto ao poder de absorção e quanto a velocidade desta absorção. Ficou evidenciado pelo experimento, que os cones mantiveram a estabilidade estrutural ou sofreram influência positiva (aumentando a velocidade e capacidade de absorção). Os cones da marca Tanari *cell pack* e Diadent *cell pack* não sofreram alterações quanto à velocidade quando submetidos a esterilizações sucessivas em autoclave. A capacidade de absorção, em diferentes ciclos, apresentou diferenças estatísticas significantes nos cones de papel da marca Diadent *cell pack* quando esterilizados por 2 x, e os cones da marca Diadent *cell pack* evidenciaram menor capacidade de absorção que os da marca Conne. O processo de autoclavagem mostrou-se viável até 10 ciclos somente para a marca Tanari, não evidenciando diferenças estatísticas significantes entre os cones Tanari e Tanari *cell pack* quanto à capacidade de absorção (KUBO *et al.*, 1999 a,b).

TARTAROTTI *et al.* (2004) avaliaram a contaminação em pontas de papel absorvente e pontas de guta-percha, em embalagens já em uso clínico, utilizados na clínica em curso de graduação de Odontologia. Treze cones de papel

absorvente da marca Endopoints e treze cones de guta-percha da marca Tanari foram avaliados. De cada material, 7 amostras foram da 1ª série (papel e guta-percha) e 6 da 2ª série (papel e guta-percha). As amostras de cada material foram divididas em quatro grupos (1ª e 2ª série), cada grupo dividido em dois subgrupos. Os grupos I e Ia (1ª série) foram compostos de subgrupo com 4 pontas nº 30 e outro com 3 pontas nº 40 para cada material. Os grupos II e IIa (2ª série) receberam 4 pontas nº 55 e 2 pontas nº 60 para cada material. Na comparação microbiológica entre os materiais, não foi observada diferença estatística significativa entre as pontas de papel absorvente e cones de guta-percha. A média de unidades formadoras de colônias (ufc) foi maior entre os cones de guta-percha do que entre os cones de papel absorvente. O estudo comprovou a contaminação de todas as amostras avaliadas.

NUNES *et al.* (2005) avaliaram, *in vitro*, a quantidade de formaldeído que permaneceu nos canais radiculares quando utilizados cones de papel mantidos esterilizados com pastilhas do produto. Os resultados mostraram que houve permanência de formaldeído no interior dos condutos quando foram utilizados cones de papel mantidos na presença de tal substância. A quantidade de formaldeído avaliada foi inferior, mas muito próxima aos níveis máximos de exposição a tal fármaco de acordo com as recomendações de órgãos internacionais.

MARTINS *et al.* (2006) avaliaram a eficácia de diferentes métodos na esterilização de cones de papel em diferentes marcas comerciais: forno de Pasteur (estufa), aparelhos de esferas de vidro (*Hot-Wave*), e pastilhas de formaldeído, utilizando quatro espécies de micro-organismos: *Escherichia coli*,

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus stearothermophilus* e *Candida albicans*. Após submetidos ao cultivo em BHI (*Brain Heart Infusion*), foram colocadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48h, e após, crescimento em placas de ágar sangue, então, foram feitos esfregaços para identificação morfológica dos micro-organismos através de método Gram. Em nova fase do experimento, os cones contaminados com os micro-organismos foram submetidos aos meios de esterilização por calor seco e pastilhas de formaldeído. Os autores observaram que o método de calor seco foi eficaz no processo de esterilização, porém a estrutura dos cones foi prejudicada; não foi comprovada esterilização através das bolinhas de vidro *Hot-Wave*; o método químico com pastilhas de formaldeído foi eficaz e não alterou as propriedades estruturais dos cones; ficou também evidenciado, que os cones existentes nas embalagens para pronto uso não podem ser considerados estéreis.

ALBERGARIA *et al.* (2007) avaliaram a impregnação de aldeído por pontas de papel absorvente esterilizados em embalagens que continham pastilhas de formaldeído, em função da toxicidade manifestada pela substância, um irritante aos tecidos humanos, que dependendo da concentração pode causar irritações leves ou chegar até a morte. Esta avaliação foi realizada com auxílio de um cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) que permitiu a determinação de taxas de impregnação de formaldeído, que foi realizada ao final de 24 horas, 48 horas, 7, 14, 21 e 28 dias. Foi verificado que os cones apresentaram impregnação em ambientes que continham formaldeído; a taxa de impregnação das pontas aumentou na primeira semana de exposição até o sétimo dia, decresceu no

décimo-quarto dia e manteve-se estável após este período, esta impregnação foi verificada em cones de papel absorvente de qualquer calibre.

VICTORINO *et al.*, 2008 estudaram a influência da esterilização utilizando calor úmido sobre as propriedades físicas e a liberação de subprodutos de três marcas comerciais de cones de papel encontradas no Brasil. Foram avaliados os cones das marcas Dentsply, Endopoints e Tanari, submetidos ao processo de esterilização por calor úmido (autoclave). A capacidade de absorção dos cones foi avaliada quanto ao número de ciclos de esterilização a que foram expostos. Os cones de cada marca foram divididos em grupos relacionados ao número de ciclos de esterilização a que foram submetidos. O grupo controle não foi submetido ao processo de esterilização. Após a esterilização, os cones foram pesados em balança analítica, em seguida 5mm das pontas dos cones foram colocados em contato com soro fisiológico por 20s, sendo pesados logo após este procedimento. Os resultados evidenciaram comportamento variando de acordo com o fabricante. Os cones das marcas Dentsply e Tanari exibiram absorção maior após o primeiro ciclo de esterilização, seguida de queda no segundo e terceiro ciclos e novo aumento no quarto ciclo. Os cones da marca Endopoints tiveram o poder de absorção diminuído após o primeiro e quarto ciclo, e aumento no segundo e terceiro ciclo. Os cones da marca Tanari foram os que apresentaram maior uniformidade de desempenho durante os sucessivos ciclos. Quanto à liberação de substâncias citotóxicas pelos cones quando submetidos ao processo de esterilização, não houve liberação de qualquer subproduto tóxico.

## **Cones de guta-percha**

A guta-percha foi introduzida na Odontologia há mais de cem anos. Tendo sido considerada por SCHILDER (2006) o melhor material para obturação de canais radiculares, respeitando-se a técnica utilizada. A guta-percha na forma de cones é, até hoje, o material obturador mais utilizado no sistema de canais radiculares, cumprido vários requisitos indispensáveis a um bom material obturador (FRIEDMAN *et al.*, 1977) possui a facilidade em seu emprego e remoção (CARDOSO *et al.*, 1999), sendo bem tolerada pelos tecidos vivos (MOORER & GENET, 1982). A guta-percha é um polímero natural orgânico (1,4 poli-isopreno) um isômero da borracha (MARCIANO & MICHAILESCO, 1989), resultante da coagulação do látex oriundo de árvores da Malásia, da família *Sapotaceae* (MANIGLIA-FERREIRA *et al.*, 2005) sendo na realidade, o principal componente dos cones. A guta-percha é rígida à temperatura ambiente, tornando-se friável entre 25 a 30°C, e macia a 60°C, fundindo-se a 100°C. Pode ser encontrada sob duas formas cristalinas: alfa e beta. A forma cristalina beta é mais estável e flexível à temperatura ambiente (MANIGLIA-FERREIRA *et al.*, 2005). A literatura registra que ocorre grande variação na formulação dos cones de guta-pecha, mas algumas generalizações podem ser observadas (FRIEDMAN *et al.*, 1977). Os componentes principais são os inorgânicos (óxidos e sulfatos), contribuindo, em média, com 77% em massa. A contribuição média da borracha guta-percha, em geral, é de 20% (MARCIANO & MICHAILESCO, 1989).

Os cones de guta-percha encontram-se usualmente disponíveis no comércio sob a forma de cones padronizados chamados de calibrados,

geralmente empregados como cones principais, e na forma de cones auxiliares utilizados como principais ou acessórios (GAHYVA & SIQUEIRA, 2001).

Em uma revisão sistemática de estudos comparando os resultados do retratamento não-cirúrgico e da cirurgia endodôntica, TORABINEJAD *et al.* (2009) relataram que os materiais utilizados na obturação dos canais radiculares eram guta-percha (75% dos casos) e outros (25% dos casos) entre os quais: cones de prata, pastas ou resinas.

FRIEDMAN *et al.* (1975) avaliaram as características químicas e propriedades mecânicas de cones de guta-percha de 5 marcas que variaram na composição em 18% a 22% do polímero; 59,1% a 75,3% de óxido de zinco (ZnO); sulfatos 1,5% a 17,3% e ceras ou resinas, 1% a 4,1%. Estudos de FRIEDMAN *et al.* (1977) evidenciaram que altos níveis de guta-percha na composição dos cones resultaram em materiais com maior rigidez, enquanto que altos níveis de óxido de zinco tenderam a aumentar a fragilidade, conseqüentemente diminuindo a fluidez.

Alguns poucos autores acreditam ser desnecessária a descontaminação de cones de guta-percha, devido às propriedades antimicrobianas de alguns componentes dos cones, ou mesmo pela atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos que os envolvem (MOORER & GENET, 1982). Não há consenso quanto à necessidade de descontaminação dos cones de guta-percha usados na obturação dos canais. Desta forma, é importante manter o estado de desinfecção alcançado, e, portanto, os cones fornecidos pelo fabricante devem ser estéreis, ou facilmente descontaminados antes do uso, para que novos microrganismos não sejam levados ao canal e possam, assim, causar uma infecção secundária, que

colocaria em risco o sucesso do tratamento. Estudos indicaram que cones de guta-percha disponíveis comercialmente podem estar contaminados com microorganismos (MONTGOMERY, 1971). Por conseguinte, a maioria dos estudos enfatiza a esterilização antes da obturação dos canais radiculares (SIQUEIRA *et al.*, 1998; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; DA MOTTA *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2005). Contudo, os cones de guta-percha, por serem sensíveis ao calor, não podem ser submetidos à esterilização por autoclave ou a altas temperaturas (SIQUEIRA *et al.*, 1998), tais métodos causariam deformação na forma destes cones, uma vez que são temolábeis (GAHYVA & SIQUEIRA, 2001). Entretanto, outros métodos de esterilização rápida estão disponíveis ao clínico, como paraformaldeído, clorexidina, álcool etílico, iodeto de polivinilpirrolidona, hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio, amônio quaternário, por irradiação gama ou feixe de elétrons (DE SOUZA *et al.*, 2003).

Estudos de HIGGINS *et al.*, 1986 tiveram o objetivo de investigar a eficácia e segurança do uso de paraformaldeído em pó. Foram examinadas: (a) a esterilidade inicial dos cones de guta-percha; (b) propriedades antimicrobianas inerentes aos cones de guta-percha; (c) efetividade do pó de paraformaldeído na esterilização dos cones de guta-percha; (d) habilidade do pó de paraformaldeído na prevenção da contaminação dos cones de guta-percha na armazenagem; (e) absorção de vapores de formaldeído pela superfície dos cones de guta-percha; (f) medida do gás de formaldeído liberado durante o método de estocagem. Os seguintes resultados foram observados: (a) os cones de guta-percha apresentaram-se estéreis quando removidos de suas embalagens lacradas; (b) não evidenciaram atividade antimicrobiana; (c) foi ineficaz a esterilização de cones

de guta-percha contaminados por esporos de *Bacillus subtilis*; (d) os cones armazenados na presença de paraformaldeído em pó preservaram a esterilização por período superior a 60 dias, embora outros cones estocados sem a presença de paraformaldeído, também permaneceram sem contaminação pelo mesmo período; (e) o formaldeído foi detectado nos cones de 1ª série (calibre #25) após 4 dias de exposição e nada foi observado em cones de 2ª série (calibre #80) até 7 dias de observação. Nenhum vestígio de formaldeído, em qualquer amostra, foi observado após remoção dos cones das embalagens que os armazenavam após 24 h; (f) A amostra do ar ambiente revelou que o nível de formaldeído na clínica não sofreu aumento pelo uso de pó de paraformaldeído no armazenamento dos cones de guta-percha.

NAMAZIKHAH *et al.* (2000) avaliaram a ocorrência de contaminação dos cones de guta-percha retirados diretamente de sua embalagem original (Grupo I) e de caixas plásticas organizadoras já em uso clínico (Grupo II). Um terceiro grupo, com 4 cones de guta-percha, constituiu o grupo controle positivo. As amostras dos dois grupos (I e II) foram subdivididas em quatro subgrupos: Ia e Iia, amostras roladas em placas contendo ágar-sangue; subgrupo Ib e IIb, onde os cones foram imersos em NaOCl a 5,25% por 1 min; subgrupo Ic e IIc, onde os cones de guta-percha receberam cimento AH-26 e foram dispostos em ágar-sangue, porém não rolados; subgrupo Id e IId, onde os cones foram imersos em NaOCl a 5,25% (como nos subgrupos b), envolvidos em cimento AH26 e colocados em ágar-sangue (como nos subgrupos Ic e IIc). Todas as placas de ágar foram incubadas a 37°C e examinadas aos 3, 7 e 14 dias após, para verificação de crescimento bacteriano. Os autores observaram crescimento em dois cones. Não houve

crescimento bacteriano nas amostras imersas em NaOCl por 1 min ou quando envolvidas em cimento AH26. Segundo os autores, os resultados mostraram que se os cones de guta-percha não forem contaminados intencionalmente, é desnecessária a descontaminação química antes da obturação.

GOMES *et al.* (2005) avaliaram a descontaminação de cones de guta-percha, com a utilização de duas apresentações de gluconato de clorexidina (gel e líquida) e solução de NaOCl. O gluconato de clorexidina testado apresentou-se em concentrações de 0,5%, 1% e 2%, e o NaOCl foi de 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%. As espécies de micro-organismos usadas neste experimento foram de anaeróbios facultativos *E. faecalis* (ATCC29212) e *Streptococcus sanguis* (ATCC25923) (atualmente *Streptococcus sanguinis*); aeróbios *S. aureus* (ATCC25923), *Candida albicans* (NTCC3736) e *B. subtilis* (ATCC19659) em forma vegetativa e esporulada. Foram utilizados cones de guta-percha acessórios da marca Tanari neste experimento. Os períodos de tempo de contato das soluções avaliadas para desinfecção dos cones nestes testes foram: imediato, 45 s, 1, 3, 5, 10, 15, 20 e 30 min. Para o gluconato de clorexidina, outros tempos foram acrescentados: 45 min, 1, 2, 3, 5, 10, 12, 24, 48 e 72 horas. Na avaliação da atividade antimicrobiana de NaOCl e clorexidina para cada micro-organismo testado os resultados mostraram que a clorexidina em todas as apresentações e concentrações observadas não foi eficaz na eliminação de esporos do *B. subtilis*, mesmo após 72 horas de contato. O NaOCl a 5,25 % foi capaz de eliminar esporos após 1 min de contato com os cones de guta-percha; e 45 s para os demais micro-organismos na concentração de 2,5%. Ambas as soluções foram eficazes na eliminação de micro-organismos em 30 min ou menos, variando o tempo de acordo com suas concentrações;

excetuando os *E. faecalis*, e a forma vegetativa do *B. subtilis*, onde foram necessárias 2 h para que a clorexidina em gel a 0,2% os eliminasse. Em segundo momento, os autores avaliaram também a contaminação dos cones de guta-percha em suas embalagens, onde constataram a contaminação de 5,5% dos cones oriundos de caixas abertas somente no momento do experimento, como também, caixas com períodos anteriores a 2 anos e meio de abertura. Os microorganismos mais frequentemente encontrados foram os *Staphylococcus epidermidis* e *S. aureus*. Em terceira fase de avaliações, os autores observaram que numa contaminação intencional de cones de guta-percha manuseados nas luvas de procedimento, o gênero *Staphylococcus* (*epidermidis* e *aureus*) foi encontrado em 100% das amostras, seguido por *Micrococcus* 33,3%; *Propionibacterium* 33,3%; *Streptococcus* 26,7%; *Bacillus* 20% e *Lactobacillus* 13,3%. Os autores reiteraram que os cones de guta-percha, mesmo estéreis inicialmente, durante o armazenamento podem ser facilmente contaminados, se manipulados incorretamente por manuseio direto com luvas de procedimento, aerossóis, ou alterações físicas. E concluíram que, o NaOCl a 5,25% é um agente eficaz para uma desinfecção, e, embora a clorexidina a 2% tenha habilidade em matar formas vegetativas, não foi eficaz na eliminação de esporos de *B. subtilis* em todos os períodos de tempo avaliados.

OZALP *et al.* (2006), em estudo utilizando o hipoclorito de sódio a 2,5% e glutaraldeído a 2% para esterilização rápida de cones de guta-percha contaminados com *B. subtilis*, verificaram a ineficácia do glutaraldeído na desinfecção mesmo após 15 min de contato. Os autores alertam que, apesar da grande probabilidade de cones de guta-percha corretamente armazenados

permanecerem estéreis, podem ser facilmente contaminados durante manipulação inadequada. Os autores indicam o hipoclorito de sódio a 2,5% durante 5 min para desinfecção dos cones de guta-percha.

COLETTO (2006) evidenciou a efetividade do hipoclorito de sódio a 1% em 1 min de contato, e o digluconato de clorexidina a 1% em 10 min na desinfecção de cones de guta-percha e de resilon contaminados previamente com *Enterococcus faecalis*.

PANG *et al.* (2007) avaliaram cones de guta-percha utilizados na clínica e estocados por mais de três meses, e a eficácia de esterilização de hipoclorito de sódio a 5,25%, clorexidina a 2% e CloraPrep (mistura de 1:1 (v/v) de álcool 70% e clorexidina 2%), nos micro-organismos. As suspensões das amostras foram inoculadas em placas de ágar BHI (*Brain Heart Infusion*), incubadas por 48 h a 37°C. O número de colônias formadas oriundas de cada cone de guta-percha foi contabilizado, e o nível total de contaminação de cada cone foi calculado. A cor e a morfologia exibidas nas placas de BHI foram avaliadas e classificadas ao microscópico. As bactérias foram isoladas como culturas puras e identificadas utilizando-se a reação de cadeia da polimerase (PCR), com iniciadores universais para o domínio *Bacteria*. O estudo mostrou que cones de guta-percha utilizados em clínica estavam contaminados (19,4%), que as espécies bacterianas encontradas pertenciam ao gênero *Staphylococcus*, e as três soluções foram eficazes na rápida desinfecção destes cones em 1 min de imersão.

KAYAOGU *et al.* (2009), avaliaram o grau de contaminação de cones de guta-percha de doze caixas lacradas pelo fabricante (# 15-40), no momento da abertura e durante seu uso clínico. E, numa segunda etapa, avaliaram a relação

entre o número de canais obturados e o número de micro-organismos contaminantes. Inicialmente, foram avaliados dois cones de guta-percha de cada calibre, escolhidos randomicamente, retirados das doze caixas lacradas. Como controle negativo, outros dois cones de cada calibre foram colocados em solução salina e esferas de vidro, e para o controle positivo, cones de guta percha foram rolados entre os dedos sem luva por 30 s. As amostras foram cultivadas em placas contendo ágar soja triptona e incubadas por três dias a 37°C. Em seguida, estas embalagens foram distribuídas randômicamente a doze alunos de Odontologia. As caixas eram coletadas ao final do primeiro e do terceiro dia e cultivadas conforme o método descrito acima. A cada sessão laboratorial, três amostras de controle negativo e positivo eram cultivadas. O experimento mostrou que cones de guta-percha de embalagens lacradas não estavam estéreis e a contaminação adicional pôde ocorrer após o uso contínuo das caixas. Alguns resultados foram contraditórios, segundo os autores. Exemplificando: no primeiro dia de cultura, 4 caixas exibiram contaminação, contudo, no terceiro dia a cultura de amostras das mesmas caixas não revelou qualquer contaminação, apesar do grande número de canais obturados. Os autores aventaram que a contaminação microbiana não teria afetado todo o conteúdo da caixa, apenas alguns cones. A contaminação foi observada em 7 das 12 caixas, no final de três dias. Inicialmente, o grau de contaminação apresentou-se baixo, mas o uso continuado proporcionou o aumento da contaminação. Contudo, os autores sugeriram que o resultado encontrado seria devido à limitação do método de amostragem, e especularam, também que, os efeitos antimicrobianos dos cones de guta-percha poderiam ter atuado sobre os micro-organismos contaminantes, impedindo a

relação direta entre a carga bacteriana e o número de canais obturados. Adicionalmente, as caixas que não exibiram contaminação foram associadas a estudantes que respeitaram os protocolos de assepsia na manipulação das mesmas durante a utilização. Em separado, um segundo teste foi realizado, em que o conteúdo total de outras três caixas seladas foi cultivado e analisado. Foram encontradas 3 unidades formadoras de colônias (cfu) como limite de detecção de crescimento microbiano. De acordo com os autores, os resultados dos estudos evidenciaram os riscos de contaminação em cones de guta-percha, apontando a necessidade de cuidados na manipulação das embalagens de cones de guta-percha, onde a caixa deve permanecer fechada quando não estiver sendo manipulada e que instrumentos estéreis devem ser usados para a retirada dos cones do interior das mesmas. Segundo os autores, em caso de suspeita de contaminação, a desinfecção química deverá ser considerada.

## **Esterilização rápida de cones de guta-percha**

Quando presente, a contaminação de cones de guta-percha pode ter ocorrido durante a manipulação da embalagem que os condicionam (NAMAZIKHAH *et al.*, 2000), e podem portanto, comprometer o estado de desinfecção alcançado pelo preparo químico e mecânico. A necessidade da descontaminação dos cones de guta-percha antes de sua inserção nos canais radiculares é recomendada pela literatura endodôntica, embora o grau de contaminação deste material permaneça conflitante (SIQUEIRA *et al.*, 1998; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; GOMES *et al.*, 2005; OZALP *et al.*, 2006; ROYAL *et al.*, 2007; KAYAOGLU *et al.*, 2009) .

Muitas diferenças de tecnologia podem ocorrer entre os diferentes fabricantes no que concerne ao controle da assepsia na produção e no empacotamento (KAYAOGLU *et al.*, 2009).

Alguns estudos evidenciaram que cones de guta-percha podem encontrar-se contaminados por micro-organismos potencialmente patogênicos, havendo a necessidade da desinfecção desses materiais antes de seu uso na terapia endodôntica. Os cones de guta-percha não podem ser esterilizados pelo calor, por serem termolábeis. Previamente à obturação, inúmeros métodos químicos têm sido utilizados com o propósito de esterilizar os cones de guta-percha.

KOTAKA *et al.* (1998) promoveram um levantamento para avaliar as técnicas de descontaminação rápida dos cones de guta-percha, preconizadas na prática endodôntica junto aos cursos, departamentos, faculdades e escolas de Odontologia existentes no Brasil. O hipoclorito de sódio foi o produto de escolha,

na concentração de 1% (39%) e em intervalos que variavam de um a trinta min, seguido pelo uso de álcool iodado em concentrações de 0,2% a 3%, em especial na concentração de 0,3% por 5 min.

A efetividade de quatro soluções químicas na eliminação de esporos de *B. subtilis* (ATCC 19659) em cones de guta-percha foi avaliada por SIQUEIRA *et al.* (1998). Cones contaminados em laboratório foram submetidos ao hipoclorito de sódio a 5,25%, clorexidina a 2%, etanol a 70% e glutaraldeído a 2%. Dez cones foram submetidos a cada agente por períodos de tempo determinados: 1, 3, 5 e 10 min, exceto para a solução de NaOCl a 5,25%, onde 20 cones foram usados por um período de 1 min. O NaOCl a 5,25% foi mais efetivo na eliminação de esporos após 1 min de contato. O glutaraldeído, a clorexidina e o álcool etílico não esterilizaram os cones, mesmo após 10 min de contato.

Diferentes concentrações da solução de NaOCl (0,25%, 0,5%, 1%, 2% e 4%) tiveram sua efetividade avaliada por CARDOSO *et al.* (1999), na rápida descontaminação de cones de guta-percha, artificialmente contaminados por *S. aureus*, *Escherichia coli* e esporos de *B. subtilis*. Todas as diferentes concentrações de NaOCl mostraram-se bactericidas para *S. aureus* e *B. subtilis* após tratamento por 1, 5, 10 e 15 min. A atividade esporicida após 1 min de contato da solução de NaOCl variou de acordo com a concentração, e com o fabricante. As concentrações de 1% até 4% mostraram-se efetivas na descontaminação após 1 min de exposição, independente do fabricante.

DA MOTTA *et al.* (2001) testaram a eficácia da desinfecção dos cones de guta-percha por dois agentes químicos em solução usados na prática endodôntica, glutaraldeído a 2,2% e hipoclorito de sódio a 2,5% utilizando cones

de guta-percha contaminados artificialmente por *Bacillus stearothermophilus* (ATCC/7953). Em relação à solução de glutaraldeído, os resultados confirmaram as indicações do fabricante que recomendaram um período mínimo de 8 a 10 h necessários para a esterilização. Já o NaOCl esterilizou os cones nos períodos de 5, 10 e 15 min de imersão.

GAHYVA & SIQUEIRA (2001) avaliaram a contaminação de cones de guta-percha removidos imediatamente das embalagens, testando cones calibrados e cones acessórios. As amostras foram transferidas de suas embalagens para tubos de ensaio contendo 18 ml de caldo tioglicolato e incubadas por 21 dias a 37°C. Foram utilizados dois cones principais ou quatro cones acessórios por tubo. Os procedimentos foram desenvolvidos no interior de uma câmara de fluxo laminar. A contaminação foi verificada pela presença de turbidez no caldo. Nos casos positivos utilizaram o método de Gram para caracterização dos micro-organismos contaminantes. Dos 111 tubos utilizados, 102 tubos estavam estéreis (91,9% sendo 88 cones principais e 14 auxiliares). Nos tubos contaminados (8,1%), os autores observaram a presença de cocos Gram positivos em cinco tubos, três com bacilos Gram negativos e um com bacilos Gram positivos. Os autores concluíram que, embora os resultados dos estudos tenham evidenciado um baixo percentual de contaminação dos cones de guta-percha disponíveis comercialmente, a descontaminação dos mesmos deve ser adotada antes de seu emprego na obturação dos canais radiculares.

ATTIN *et al.* (2001) determinaram a propriedade antibacteriana da esterilização de cones de guta-percha pelo método *electron beam* (feixe de elétrons) em cones de guta-percha em períodos diferentes de tempo, após a

esterilização. Foi utilizado o teste de difusão em ágar para avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes tipos de cones de guta-percha em seis espécies de bactérias, sendo cinco espécies anaeróbias (*Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas gingivalis*, *Propionibacterium acnes*, *Veillonella parvula*), uma espécie anaeróbia (*Bacillus subtilis*). Com cada micro-organismo, 30 placas de ágar foram inoculadas e igualmente distribuídas entre três grupos experimentais. No grupo I foram utilizados cones de guta-percha não esterilizados, e nos grupos II e III foram avaliados cones de guta-percha esterilizados por irradiação, através de acelerador de elétrons, em períodos de 5 meses e 5 anos anteriores. Todos os cones de guta-percha testados apresentaram inibição no crescimento bacteriano, não havendo diferença nas zonas de inibição entre os micro-organismos avaliados. O estudo, entretanto, não constatou a influência de esterilização com radiação ionizante nas propriedades antibacterianas dos cones de guta-percha.

A eficiência de três desinfetantes usados em Odontologia foi estudada por DE SOUZA *et al.*, 2003, em sessenta cones de guta-percha contaminados com *E. faecalis*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e esporos de *B. subtilis*. Os cones foram tratados com solução aquosa de iodeto de polivinilpirrolidona (PVP-I) a 10% (grupos 1 e 2), solução aquosa de hipoclorito de sódio a 5,25% (grupos 3 e 4) e pastilhas de formaldeído (grupo 5). Após a contaminação, os cones de guta-percha foram submetidos à desinfecção por PVP-I a 10% e por 3 s em álcool 96% (grupo 1), PVP-I por 3 s (grupo 2); ao hipoclorito de sódio a 5,25% por 15 s (grupo 3) e 45 s (grupo 4); e por pastilhas de formaldeído por 1 h (grupo 5). Ficou evidenciado que todos os agentes são

eficazes para esterilização a frio dos cones de gutapercha nas condições testadas.

A impregnação dos cones de gutapercha com substâncias antimicrobianas foi testada em alguns estudos, como alternativa para potencializar a atividade antimicrobiana dos cones e controlar possível contaminação dos mesmos durante sua manipulação.

Cones de gutapercha da marca comercial Roeko (Langenau, Alemanha), contendo hidróxido de cálcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) foram analisados em sua habilidade de reduzir a contagem bacteriana de espécies relevantes a infecções no canal radicular, por PODBIELSKI *et al.* (2000). Outros cones de gutapercha impregnados com desinfetantes diversos foram testados paralelamente. Foram utilizadas espécies bacterianas de: *Streptococcus intermedius* (ATCC27335), *Peptostreptococcus micros* (ATCC33270) (atualmente *Parvimonas micra*), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) e *E. faecalis* (ATCC29212). Após estabelecida a avaliação quantitativa, a atividade antibacteriana de cones de gutapercha contendo medicação intra-canal foi analisada. A inibição de crescimento bacteriano foi avaliada pela contagem de culturas desenvolvidas na presença de cones contendo  $\text{Ca(OH)}_2$ , ZnO, ZnO em combinação com clorexidina, iodeto de polivinilpirrolidona (PVP-I), ou ambos. Os resultados demonstraram que o  $\text{Ca(OH)}_2$ , o ZnO/CHX, ou ZnO/PVP-I não possuem ação inibitória suficiente para esterilizar canais contaminados por uma única espécie bacteriana, ou mesmo uma mistura de patógenos endodônticos comuns. Os autores enfatizaram que para máxima eficácia do tratamento endodôntico, há a necessidade de remoção do

material contaminado e irrigação intermitente, visando a redução da carga bacteriana a níveis onde a medicação tenha atividade suficiente para eliminar os patógenos endodônticos remanescentes.

A avaliação do efeito antimicrobiano, *in vitro*, de cones de guta-percha impregnados por CHX versus pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  em veículo aquoso contra *E. faecalis* foi realizada por LUI *et al.* (2004). Pré-molares superiores humanos extraídos por indicação ortodôntica tiveram suas coroas removidas e suas raízes separadas. Os canais foram preparados com instrumentos movidos a motor Profile 0,04 mm até os calibres 0,60mm e 0,90mm. Posteriormente, esses dentes foram esterilizados em autoclave e contaminados com *E. faecalis* (ATCC 29212) por três semanas. Os resultados evidenciaram que o  $\text{Ca(OH)}_2$  não teve a habilidade de eliminar completamente *E. faecalis*. Os cones impregnados de clorexidina não apresentaram uma atividade inibitória forte suficiente para eliminar completamente um número expressivo de um único patógeno endodôntico e mostrou-se, também, menos efetiva que a pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$ .

CHOGLE *et al.* (2005) testaram a habilidade de cones de guta-percha associados ao iodofórmio e cones convencionais impedirem a infiltração de *E. faecalis in vitro*. Utilizaram setenta dentes unirradiculares, que após preparo foram autoclavados e obturados. Trinta amostras foram obturadas por condensação lateral com cones iodofórmio-guta-percha, e outros trinta, com cones convencionais. Os dez cones restantes foram usados como controle negativo e positivo. Os cones convencionais apresentavam aproximadamente 66% de ZnO, enquanto que os cones medicados apresentavam 57% (o ZnO foi substituído por

tri-iodo-metano). Os dentes foram contaminados por uma ponta de algodão inoculada com uma suspensão de *E. faecalis* e colocada na parte coronária de cada dente, sendo o dente inserido num tubo de látex (*penrose*). As amostras foram incubadas recebendo diariamente nova inoculação microbiana e observadas por trinta dias para avaliação da microinfiltração por *E. faecalis*. O experimento mostrou que o iodofórmio contido nos cones de guta-percha não demonstrou atividade inibitória mais pronunciada que a verificada nos cones convencionais. Os autores concluíram que os cones de guta-percha e iodofórmio não apresentam vantagens sobre os demais cones .

ROYAL *et al.* (2007) estudaram a desinfecção de 45 *pellets* (pastilhas) de Resilon e 45 *pellets* de guta-percha, contaminadas em imersão por 5 min, numa suspensão de *E. faecalis*, utilizando NaOCl a 5,25% durante 1, 5, 10 min de imersão, MTAD e clorexidina a 2%. Os grupos experimentais foram divididos em três: grupo 1 (NaOCl a 5,25%) - 15 *pellets* de resilon e 15 *pellets* de guta-percha foram contaminadas, 5 *pellets* de cada grupo foram imersas por 1, 5 e 10 min; o grupo 2 (MTAD) - 15 *pellets* de resilon e 15 *pellets* de guta-percha foram contaminadas e 5 *pellets* de cada grupo foram imersas por 1, 5 e 10 min; e grupo 3 (clorexidina 2%) - 15 *pellets* de resilon e 15 *pellets* de guta-percha foram contaminadas e imersas por 1, 5 e 10 min. Os resultados deste experimento *in vitro* demonstraram a habilidade das três substâncias na desinfecção rápida do resilon e guta-percha na presença de *E. faecalis*, e que 1 min em imersão foi adequado para promover a descontaminação.

TANOMARU *et al.* (2007) avaliaram a ação antimicrobiana de diferentes composições e marcas de cones de guta-percha, assim como pastas à base de

hidróxido de cálcio utilizadas em Endodontia. Foram avaliados cones de guta-percha contendo hidróxido de cálcio (Roeko), contendo clorexidina (Roeko), duas marcas de cones de guta-percha de dois fabricantes diferentes (Roeko e Endopoints) e duas pastas à base de hidróxido de cálcio (Calen e Calen/Para monoclorofenol-canforado). Os resultados mostraram, que, todas as espécies microbianas utilizadas foram inibidas na presença de cones de guta-percha com CHX e pelas pastas de hidróxido de cálcio. Os autores concluíram que os cones de guta-percha com CHX apresentaram atividade antimicrobiana, enquanto que os cones com hidróxido de cálcio não apresentaram esta propriedade.

É importante que a superfície dos cones obturadores não seja afetada pelo agente desinfetante utilizado, nem resíduos indesejáveis permaneçam após sua utilização. SHORT *et al.* (2003) identificaram a presença, cristalização e remoção de cristais de hipoclorito de sódio após esterilização rápida com esta substância a 5,25% e 2,5% em 72 cones de guta-percha testados. Os cones de guta-percha, analisados diretamente de suas embalagens, não apresentaram cristais de hipoclorito de sódio quando submetidos a exame por meio de microscopia eletrônica de varredura. Porém, após a desinfecção com tais soluções, todos os cones apresentaram tais cristais. A remoção destes cristais foi eficaz após lavagem com: álcool etílico a 96%, álcool isopropílico a 70% ou água destilada.

VALOIS *et al.* (2005) investigaram os efeitos do hipoclorito de sódio na estrutura de cones de guta-percha utilizando um microscópio de força atômica. Os autores encontraram deterioração considerável na elasticidade dos cones submetidos ao hipoclorito de sódio a 5,25% durante 1 min, e alterações topográficas em cones submetidos ao hipoclorito de sódio a 5,25% e 2,5% após 5

min. O hipoclorito de sódio a 0,5% não induziu alterações na topografia ou elasticidade dos cones, sendo sugerido como alternativa segura para descontaminação rápida de cones de guta-percha.

PANG *et al.* (2007) demonstraram que o hipoclorito de sódio a 5,25%, a clorexidina a 2% e o ChlorPrep® (gluconato de clorexidina 2% e álcool isopropílico a 70%) desinfetaram a superfície de cones de guta-percha imersos durante 1 min nas respectivas substâncias. Microfotografias dos cones imersos em hipoclorito de sódio a 5,25% mostraram a presença de cristais de hipoclorito aderidos nas suas superfícies. Todos os agentes desinfetantes aumentaram a taxa de alongamento dos cones, demonstrando a necessidade de mais estudos para determinar a relevância clínica das alterações das propriedades físicas encontradas neste estudo.

## **PROPOSIÇÃO**

---

Os objetivos deste estudo foram:

1- Avaliar a presença de contaminação bacteriana em cones acessórios de guta-percha, armazenados em embalagens que estavam em uso clínico, por clínicos gerais e especialistas em Endodontia; e

2- Verificar se existe diferença significativa no índice de contaminação, caso presente, dos cones de guta-percha acessórios das caixas provenientes de clínicos e especialistas; e

3- Investigar a presença de contaminação bacteriana em cones de papel absorvente de diferentes marcas comerciais, apresentados como estéreis.

### **Experimento I – cones de guta-percha**

Para atender ao objetivo 1 deste estudo, a metodologia utilizada no experimento I foi baseada e adaptada do trabalho de PEREIRA (2008). Foram avaliadas amostras de cones de guta-percha acessórios, tamanho médio (*M - medium*) de diferentes marcas comerciais, coletadas de 15 caixas que estavam em uso clínico por cirurgiões-dentistas clínicos gerais (grupo I) e de 15 caixas que estavam em uso clínico por especialistas em Endodontia (grupo II). Como controle positivo, foram coletados dois cones de uma caixa nova, lacrada, da marca Dentsply, Brasil.

As caixas em uso clínico foram coletadas no ambiente de trabalho dos cirurgiões-dentistas da seguinte maneira: as caixas foram fechadas e inseridas em envelope grau cirúrgico previamente esterilizado em autoclave. Esta manipulação foi realizada com o auxílio de luvas de procedimento. Cada uma das caixas permaneceram nos graus lacrados (**Figura 1**), armazenadas à temperatura ambiente até o momento dos testes laboratoriais. Este período não excedeu 7 dias.



**Figura 1** - Caixa de cones de guta-percha inserida em envelope grau cirúrgico previamente esterilizado.

O processamento microbiológico das amostras foi realizado no Laboratório de Micobactérias do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes na Universidade Federal do Rio de Janeiro. Toda a manipulação dos cones foi realizada no interior de uma câmara de fluxo laminar, composta por uma cabine de proteção biológica Bio Protector Modelo 09 (Veco, Campinas, SP), previamente descontaminada internamente com etanol 70% e esterilizada por luz ultravioleta durante 15 min (**Figura 2**). O operador utilizou luvas de procedimento e instrumentos estéreis em todos os procedimentos no interior da câmara (**Figura 3**), além de equipamento de proteção individual. As avaliações bacteriológicas tiveram o caráter quantitativo e qualitativo.



**Figura 2** – Aspecto da câmara de fluxo laminar com cabine de proteção biológica na qual foram manipuladas as amostras.

Para avaliação quantitativa, de cada uma das 30 embalagens (30 caixas no total), dois cones foram retirados por meio de pinças estéreis, e imediatamente transferidos para um tubo de ensaio contendo 15 ml de caldo tioglicolato (**Figura 3**). Como as caixas apresentavam várias divisões, os cones testados foram retirados da(s) divisão (ões) que continha(m) menos cones.

Para cada nova amostra foi utilizada uma nova pinça flambada para transferência dos cones. Este procedimento foi realizado em triplicata, utilizando, portanto, 180 cones *Medium*, perfazendo um total de 90 tubos/testes nos grupos experimentais. Os tubos contendo caldo tioglicolato foram incubados por até 21 dias, à temperatura de 37°C, em aerobiose, e examinados diariamente para verificação da presença de turbidez.



**Figura 3-** Transferência dos cones de guta-percha para o meio de tioglicolato.

Os tubos que apresentaram turvação na inspeção visual foram agitados em vórtex por 30s, e seu conteúdo submetido à diluição seriada de 10x em solução salina, até  $10^{-3}$ . Alíquotas de 0,1 ml foram semeadas em placas de ágar CLED (ágar de cistina lactose deficiente em eletrólitos) para identificação bacteriológica (avaliação qualitativa). Esta semeadura foi realizada por estadiamento com a utilização de alça de platina esterilizada em bico de Bunsen. As placas de ágar foram incubadas a 37°C em aerobiose e o exame foi realizado após 24 h.

Adicionalmente, uma alíquota de cada caldo tioglicolato que apresentou turbidez foi submetida à coloração pelo método tintorial de Gram em lâmina de vidro. As lâminas foram examinadas utilizando um microscópio ótico, Nikon ECLIPSE E200, com 1000 x de aumento. As células evidenciadas pela coloração roxa (complexo violeta-lugol) foram classificadas como Gram positivas (G+),

enquanto que as células com coloração vermelha (fucsina) foram classificadas como Gram negativas (G-).

Por fim, para todas as amostras que produziram turvação do meio tioglicolato, foi realizado o repique no mesmo meio para separar os tubos que turvaram, mas não estavam contaminados. Para cada tubo turvado, um novo tubo foi utilizado no repique e mantido nas mesmas condições de temperatura e aerobiose descritas anteriormente, por 48 horas.

Os meios de cultura, tioglicolato (Fluid Thioglycollate Medium, Merck, Darmstadt, Alemanha) e CLED (Merck, Darmstadt, Alemanha) cujas formulações estão explicitadas nos **Anexos I e II**, respectivamente, foram preparados de acordo com as instruções do fabricante.

A distribuição dos grupos por quantidade de cones, origem e repetições e número de tubos/testes, acrescidos dos controles negativo e positivo realizados na avaliação quantitativa está exibida na **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Distribuição dos grupos por quantidade de cones de guta-percha, origem, repetições e nº de tubos/testes na avaliação qualitativa.

Grupo	Nº. cones selecionados	Nº caixas examinandas	Repetições	Nº de tubos/testes	Nº total de cones
Grupo I C. dentistas clínicos Caixas nº 1-15	2	15	3	45	90
Grupo II C. dentistas especialistas Caixas nº 16-30	2	15	3	45	90
Controle negativo	-	-	-	1	-
Controle positivo	2	1	3	3	6
Totais	-	31	-	94	186

(-) Não aplicável ou irrelevante

## Controles

Um tubo contendo meio de cultura sem qualquer cone foi utilizado como controle negativo do meio. Já o controle positivo foi a partir de uma cultura da cepa ATCC29213, de *Staphylococcus aureus*, crescida em caldo tripticase-soja por 24h. Seis cones de guta-percha, retirados de uma caixa lacrada pelo fabricante, foram imersos nestas diluições e, transferidos para caldo tioglicolato,

inserindo-se 2 cones em cada tubo (teste em triplicata). Todos os tubos foram incubados da mesma forma descrita para os grupos experimentais.

O controle positivo das placas de ágar CLED foi realizado com semeadura da mesma cultura de *Staphylococcus aureus*, cepa ATCC29213, e uma placa contendo apenas o ágar CLED foi utilizado como controle negativo.

### **Experimento II – cones de papel absorvente**

Para avaliar a presença de contaminação microbiana em cones de papel absorvente de três diferentes marcas comerciais, e atender ao terceiro objetivo deste trabalho foram testados cones de 2ª série (pontas de calibre 0,45 mm a 0,80 mm) perfazendo um total de 114 cones de papel.

A manipulação dos cones foi toda realizada no interior de uma câmara asséptica, marca Permutation (E.J. Krieger & Cia Ltda, Curitiba, Brasil) composta por uma cabine de proteção biológica previamente descontaminada com etanol 70% e esterilizada por luz ultra-violeta durante 15 min nas dependências do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Estácio de Sá. Todas as embalagens apresentaram-se lacradas pelo fabricante até o momento do experimento. O operador utilizou equipamento de proteção individual, luvas estéreis e instrumentos estéreis durante a manipulação na câmara asséptica. Foi utilizada uma nova pinça estéril para cada célula/divisão examinada.

As marcas que tiveram os cones de papel absorvente avaliados foram Roeko-Coltène/Whaledent (Langenau, Alemanha), Dentsply-Maillefer (Ballaignes, Suíça) e Endopoints (Manacapuru, Brasil). Na seleção das amostras, as caixas das três marcas comerciais de papel absorvente foram adquiridas em diferentes lojas de materiais dentários de diversos bairros da cidade do Rio de Janeiro. Todas as amostras apresentaram-se dentro do prazo de validade. Os cones das marcas Dentsply e Endopoints apresentaram-se em células *cell-pack* esterilizadas, enquanto na marca Roeko, os cones de papel estavam em embalagem única, porém, não individualizada (caixa plástica com divisões embalada em plástico). Em todas as caixas constava no rótulo a indicação de que os cones estavam esterilizados. No total foram avaliadas nove caixas de cones de papel absorvente, lacradas, sendo três caixas para cada marca. Os cones foram divididos de acordo com sua marca, e de acordo com seus números de lotes, conforme segue: Dentsply nº 108694B, 078956B, 625381; Endopoints nº 96089P, 94059P, 91092; Roeko nº 214468, 214341, 218482 (**Tabela 2**).

Cinqüenta e quatro tubos contendo meio de cultura foram numerados, de acordo com suas respectivas marcas e números de lote. Foram testados dois cones (Endopoints, Dentsply e Roeko) de cada calibre, de cada célula/divisão. Os cones foram imersos em caldo de cultivo TSB (composição no **Anexo III**). Somados a isso, dois controles negativos por grupo: sendo um tubo fechado apenas com o caldo de cultivo TSB (como controle do meio microbiológico de cultura), e um outro tubo com TSB mantido aberto dentro da câmara asséptica durante o experimento (como controle microbiológico da câmara asséptica).

**Tabela 2:** Marcas, lotes de cones de papel avaliados e numeração dos tubos teste.

MARCA	1º LOTE	2º LOTE	3º LOTE
Dentsply	108694B tubos n°s.1 / 6	078956B tubos n°s. 7 / 12	625381 tubos n°s.13 / 18
Endpoints	94059P tubos n°s 37 / 43	96089P tubos n°s. 44 / 49	91092 tubos n°s. 50 / 54
Roeko	214468 tubos n°s. 19 / 24	214341 tubos n°s. 25 / 31	218482 tubos n°s. 32 / 36

Ressaltamos que todas as amostras, tanto dos grupos experimentais quanto dos controles, foram coletadas sob rígida assepsia conforme descrito anteriormente (**Figura 4**).

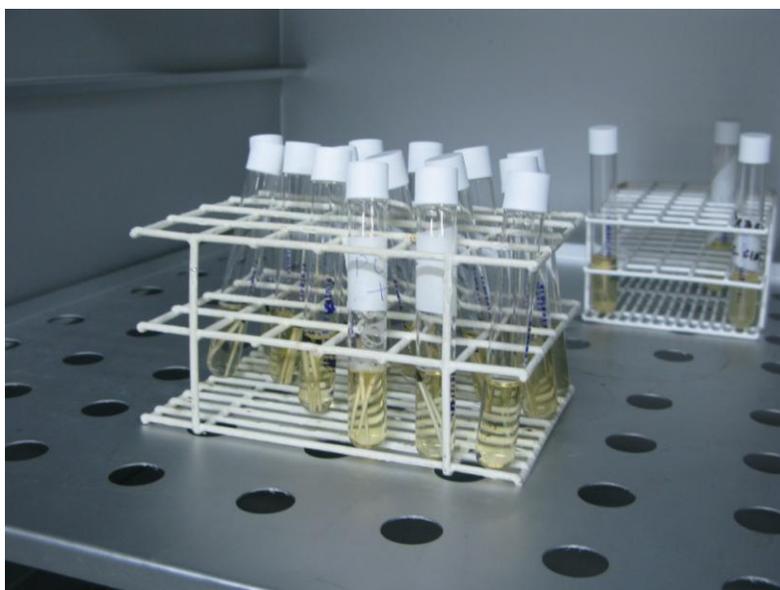


**Figura 4:** Aspecto de coleta de cone de papel absorvente e deposição em tubo contendo

caldo TSB.

Para o controle positivo da eficácia do meio de cultura utilizamos dois cones contaminados por saliva humana (controle positivo) para cada marca comercial .

Os tubos foram então armazenados a 37°C em estufa bacteriológica (**Figura 5**), mantidos em aerobiose e duas leituras foram realizadas para observação da turvação indicativa de crescimento microbiano, uma após 24 horas e outra após 48h.



**Figura 5:** Armazenagem das amostras em estufa bacteriológica a 37°C

Após a leitura dos resultados, os tubos que apresentaram turbidez foram agitados em vórtex por 1min para homogeneização e em seguida foi realizada semeadura por estriamento com o auxílio de alças de platina esterilizadas. Foi aplicada a técnica de esgotamento para evidenciação de enterobactérias em placas contendo meio seletivo ágar EMB-Teague (Eosina-Azul de Metileno) e ágar sangue de carneiro, ambos, fornecidos pela Plast Labor, Brasil (composição nos

**Anexos IV e V).** Já tubos que não apresentaram sinais de crescimento microbiano foram mantidos em estufa bacteriológica a 37°C por até 21 dias para confirmação de ausência de contaminação (**Figura 6**).



**Figura 6:** Tubo exibindo ausência de crescimento bacteriano no controle negativo e tubo com cones de papel exibindo turbidez

A **Tabela 3** resume a distribuição dos grupos pela quantidade de cones, origem, repetições e tubos/testes na avaliação quantitativa. A marca que demonstrou crescimento teve seus testes repetidos mais uma vez com outros cones da mesma caixa, em caldo tioglicolato por 48h, a 37°C em aerobiose no Laboratório de Micobactérias do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, utilizando câmara de fluxo laminar

composta por cabine de proteção biológica na qual foram manipuladas as amostras (**Figura 2**), seguindo os mesmos cuidados de assepsia relatados anteriormente.

Esta última etapa foi realizada a título de confirmação; seus dados não foram computados na **Tabela 3**. Utilizou-se a mesma quantidade de cones (36) da mesma forma que anteriormente descrito com relação às repetições e tubos/teste, assim como foi realizado um controle negativo idêntico ao primeiro exame.

**Tabela 3:** Distribuição dos grupos por quantidade de cones de papel, origem, repetições e tubos/teste.

Marca	Nº de cones selecionados	Nº de caixas examinadas	Repetições	Nº de tubos/testes	Nº total de cones
Dentsply	12	3	-	18	36
Endopoints	12	3	-	18	36
Roeko	12	3	-	18	36
Controle negativo	-	-	-	6	-
Controle positivo	2	3	-	3	6
Totais	38	12	-	63	114

(-) Não aplicável ou irrelevante

## RESULTADOS

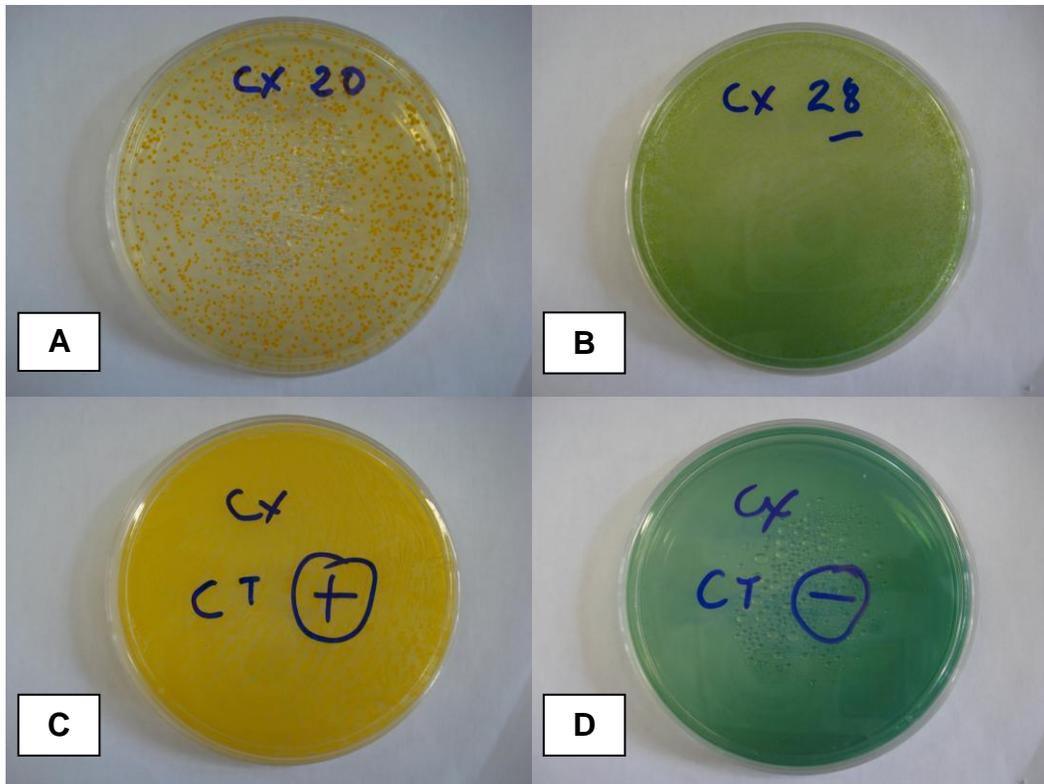
---

### Experimento I: cones de guta-percha

Na avaliação quantitativa, das 30 caixas avaliadas, 14 amostras produziram alteração da densidade ótica detectada visualmente nos diferentes períodos de tempo, sendo: 6 amostras após 48 horas (caixas nºs. 4, 10, 16, 20, 22, 23); 5 amostras após 7 dias (caixas nºs. 8, 11, 19, 21, 28); e 3 amostras após 21 dias (caixas nºs. 14, 17, 18).

Na avaliação qualitativa apenas 2 placas demonstraram crescimento bacteriano (caixas nºs. 20 e 28) (**Figuras 7 A,B**), confirmando o crescimento de *Staphylococcus aureus* em ambas, com base na identificação da morfologia das colônias (**Anexo II**).

Os controles positivo e negativo do ágar CLED demonstraram os resultados esperados (**Figura 7C,D**).



**Figura 7:** Placas de ágar CLED. Em **A** e **B**, placas de ágar evidenciando crescimento bacteriano nas amostras provenientes das caixas de cones de nº 20 e 28. Em **C**, controle positivo exibindo crescimento e em **D**, controle negativo exibindo apenas precipitação de água na tampa.

A descrição dos resultados sucederá a **Tabela 4**, que apresenta, de maneira esquematizada, o resumo dos resultados da avaliação da contaminação dos cones.

**Tabela 4** - Relação das amostras, presença de turbidez e confirmação da contaminação microbiana através do método de Gram por caixa testada

Grupos	Caixa	Avaliação 48h	Avaliação 7 dias	Avaliação 14 dias	Método de Gram
Grupo I Clínicos	1	-	-	-	não submetido
	2	-	-	-	não submetido
	3	-	-	-	não submetido
	4	+	-	-	•
	5	-	-	-	não submetido
	6	-	-	-	não submetido
	7	-	-	-	não submetido
	8	-	+	-	Cocos G+ e fungos
	9	-	-	-	não submetido
	10	+	-	-	Bacilos G+
	11	-	+	-	Bacilos G+
	12	-	-	-	não submetido
	13	-	-	-	não submetido
	14	-	-	+	Bacilos G-
	15	-	-	-	não submetido
Grupo II Especialistas	16	+	-	-	Bacilos G-
	17	-	-	+	Bacilos G+
	18	-	-	+	Bacilos G+
	19	-	+	-	•
	20	+	-	-	Cocos G+
	21	-	+	-	•
	22	+	-	-	•
	23	+	-	-	•
	24	-	-	-	não submetido
	25	-	-	-	não submetido
	26	-	-	-	não submetido
	27	-	-	-	não submetido
	28	-	+	-	Cocos G+
	29	-	-	-	não submetido
	30	-	-	-	não submetido
Controle negativo do meio	Não aplicável	-	-	-	não submetido
Controle positivo do meio	Caixa lacrada pelo fabricante	+	+	+	não submetido

- ausência de turbidez
- + presença de turbidez
- resultados negativos para coloração de Gram

Das 14 amostras que apresentaram turvação no tioglicolato, alíquotas de foram aplicadas diretamente em lâminas de vidro e submetidas à coloração pelo método de Gram para caracterização morfotintorial do micro-organismo, caso presente. Cinco amostras não evidenciaram presença de micro-organismos corados pelo Gram. Nos tubos onde a contaminação microbiana foi confirmada pela coloração (9/30), foram evidenciados cocos Gram-positivos, bacilos Gram-negativos, bacilos Gram-positivos e fungos. Além disto, esta contaminação também foi confirmada pelo repique em mais tubos contendo caldo de tioglicolato, confirmando a contaminação de 9 caixas.

Das amostras que evidenciaram presença de micro-organismos, ou seja, aquelas que produziram a turvação do meio em que a contaminação foi confirmada pelo método de Gram, pudemos observar contaminação de 30% das caixas de cones de guta-percha (9/30), onde, 4 amostras pertenciam às caixas de cirurgiões-dentistas clínicos (Grupo I), num percentual total de 13,3% (4/15), e 5 amostras a especialistas em Endodontia (Grupo II), num percentual total de 16,6% (5/15).

A análise estatística mostrou não ser significativa a diferença entre as quantidades de amostras contaminadas de acordo com sua proveniência. Foi aplicado o teste do Qui-quadrado através do *software* Excel versão 2003 (**Tabela 5**).

No grupo controle positivo, os cones contaminados com *Staphylococcus aureus* produziram intensa turvação do meio tioglicolato, já evidente após 24h.

**Tabela 5** - Tabela de contingência indicando a quantidade de amostras com e sem contaminação, de acordo com a procedência.

PROCEDÊNCIA	COM CONTAMINAÇÃO	SEM CONTAMINAÇÃO	TOTAL
Grupo I Clínicos	4	11	15
Grupo II Especialistas	5	10	15
TOTAL	9	21	30

Teste  $\chi^2 = 0,158$ ,  $p = 0,6903$

A **Figura 8** ilustra como foi verificação da presença de turbidez. Notar a presença de turbidez evidente em uma amostra do grupo experimental (23), no controle positivo (C+), e a ausência de turbidez no controle negativo (C-).



**Figura 8** – Aspecto de tubos sugerindo contaminação dos cones no controle positivo (C+) e na amostra proveniente da caixa nº 23 (tubo do centro), assim como ausência de crescimento bacteriano no controle negativo (C-).

## **Experimento II: cones de papel absorvente**

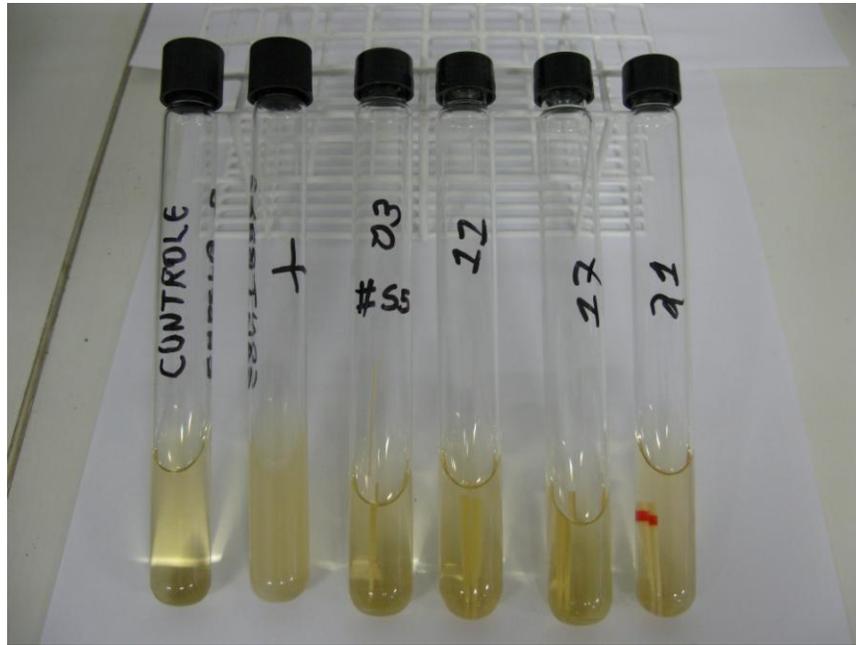
Os tubos contendo os cones de papel das marcas Dentsply e Roeko não evidenciaram qualquer turbidez nos diferentes períodos de tempo avaliados **(Figura 9)**.

Os cones da marca Endpoints mostraram turbidez em todas as amostras avaliadas após 24 h de incubação. Uma intensa turbidez, com presença de halos de fermentação, foi verificada em todos os tubos utilizados para esta marca. Os cones encontraram-se com aspecto visual de integridade estrutural.

A semeadura de uma alíquota (0,1ml) do caldo TSB das amostras da marca Endpoints em placas de ágar EMB-Teague com o auxílio de alça de platina esterilizada em bico de Bunsen revelou crescimento em todas as placas, confirmando a contaminação bacteriana. No ágar sangue, foi verificado a presença de hemólise em mais da metade das placas.

Para a marca que demonstrou contaminação, os testes foram repetidos em meio tioglicolato utilizando amostras das mesmas caixas, e confirmaram a contaminação nos cones desta marca, evidenciando intensa turbidez após 48 h.

O controle negativo desta repetição não exibiu qualquer alteração de densidade ótica do meio, conforme esperado.



**Figura 9:** Aspecto de tubos exibindo ausência de turbidez no controle negativo, turbidez no segundo tubo, controle positivo (+), e ausência de contaminação bacteriana nos demais tubos.

## DISCUSSÃO

---

O surgimento ou mesmo a persistência de lesões perirradiculares após o tratamento endodôntico está relacionado principalmente com a presença de bactérias no interior do sistema de canais radiculares (ENGSTRÖN, 1964; SUNDQVIST *et al.*, 1998; SIQUEIRA, 2001; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008a; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b). Durante o tratamento endodôntico, devemos dispender esforços para a completa remoção de micro-organismos dos canais radiculares (PÉCORA *et al.*, 1988; SIQUEIRA *et al.*, 1998; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b; KAYAOGLU *et al.*, 2009) e ainda prevenir a introdução de outros no sistema (GAHYVA & SIQUEIRA, 2001). Estudos de cultura bacteriana, avaliando dados quantitativos para estabelecer a ligação entre bactérias persistentes e o resultado dos tratamentos endodônticos, mostraram que a ocorrência de cultura positiva projeta prognósticos ruins (SUNDQVIST, 1976; SUNDQVIST *et al.*, 1998). A meta, portanto, do tratamento endodôntico é reduzir a população bacteriana a níveis não detectados por procedimentos de cultivo, ou sejam contagens que variam de  $10^3$  a  $10^4$  células/canal (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008a). Portanto, os profissionais devem estabelecer um protocolo terapêutico eficaz no controle e na eliminação de micro-organismos e que mantenha rigorosamente a cadeia asséptica, prevenindo a instalação de uma infecção secundária (SIQUEIRA *et al.*, 1998; SIQUEIRA, 2001; TORABINEJAD *et al.*, 2005; SIQUEIRA & RÔÇAS, 2008b). Isto é conseguido através do preparo químico e mecânico dos canais radiculares. Após esta etapa, a obturação dos canais visa manter o estado de

desinfecção alcançado. Nesta fase, os micro-organismos remanescentes devem ser sepultados, impedindo seu acesso aos tecidos perirradiculares, fonte de nutrientes. Isto poderia acarretar uma inflamação perirradicular e interferir no processo de cura (SIQUEIRA, 2001).

A guta-percha, desde sua introdução na Endodontia, tem sido considerada o melhor material para obturação de canais radiculares (SCHILDER, 2006), sendo apresentada com percentagens de alguns componentes variando de acordo com o fabricante (FRIEDMAN *et al.*, 1975; FRIEDMAN *et al.*, 1977); mas todos possuem em sua formulação elementos que exibem alguma atividade antimicrobiana como o ZnO (MOORER & GENET, 1982). Os cones de guta-percha encontram-se disponíveis no mercado armazenados em embalagens na forma de cones padronizados calibrados, empregados como cones principais, e na forma de cones auxiliares utilizados como principais ou acessórios, apresentando várias propriedades exigidas de um material obturador, tais como: a biocompatibilidade, propriedades antimicrobianas, entre outras (FRIEDMAN *et al.*, 1975, PODBIELSKI *et al.*, 2000), sendo facilmente introduzidos e removidos do interior dos canais radiculares (CARDOSO *et al.*, 1999)

Com a intenção de ampliar a ação antimicrobiana dos cones de guta-percha, muitas substâncias foram propostas para serem adicionadas a essas pontas, como: o PVP-I (MONTGOMERY, 1971, PODBIELSKI *et al.*, 2000), Ca(OH)<sub>2</sub> (PODBIELSKI *et al.*, 2000; LUI *et al.*, 2004, TANOMARU *et al.*, 2007), CHX (PODBIELSKI *et al.*, 2000; LUI *et al.*, 2004; TANOMARU *et al.*, 2007) e iodofórmio (CHOGLE *et al.*, 2005). O efeito antimicrobiano das pontas de guta-

percha associadas a outras substâncias como: CHX,  $\text{Ca(OH)}_2$  ou iodofórmio não proporcionou vantagens sobre os cones usuais (PODBIELSKI *et al.*, 2000; LUI *et al.*, 2004) com exceção dos achados de TANOMARU *et al.* (2007) que observaram *in vitro* que as pontas associadas a CHX mostraram atividade antimicrobiana contra todas as espécies bacterianas utilizadas em seu experimento.

Tanto os cones de guta-percha, como os cones de papel, mesmo quando apresentados em embalagens lacradas, ao entrarem em contato com o ambiente após o rompimento das mesmas, tornam-se potencialmente contaminados. Entretanto, estudos de HIGGINS *et al.*, 1986 demonstraram que o risco de contaminação dos cones de guta-percha no momento de abertura na clínica dental não representa preocupação. Somado a esse, o trabalho de NAMAZIKHAH *et al.*, 2000 concluiu que, se a guta-percha não for intencionalmente contaminada, não há necessidade de descontaminação química antes da obturação dos canais. Alguns estudos atribuíram a dificuldade de colonização microbiana de cones de guta-percha às propriedades antibacterianas do óxido de zinco presente na sua composição (MOORER & GENET, 1982; LEONARDO *et al.*, 1997a), outros estudos, entretanto, evidenciaram crescimento bacteriano em amostras de cones retirados de caixas lacradas pelo fabricante (GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; GOMES *et al.*, 2005; KAYAOGLU *et al.*, 2009). Tais conclusões, entretanto, devem ser cuidadosamente analisadas.

Deve ser considerado que quando o cone de guta-percha é envolvido pelo cimento, é possível que durante a inserção no canal, ou mesmo durante a lambreamento dos cones no cimento, áreas ainda permaneçam descobertas. Justificando, a presença de espaços vazios nas obturações endodônticas sem

cimento tem sido freqüentemente apontada pela literatura (ANBU *et al.*, 2010; JAMES *et al.*, 2007).

DA MOTTA *et al.* (2001) afirmaram que a simples exposição ambiental não é crítica, contudo, o princípio básico de controle de infecção na manipulação do material deve ser respeitado. Diferentes estudos evidenciaram a contaminação microbiana durante a manipulação frequente das embalagens de cones de guta-percha (MONTGOMERY,1971; DA MOTTA *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2005; KAYAOGLU *et al.*, 2009).

A utilização de material endodôntico imprópriamente esterilizado concorrerá para o fracasso na terapia, aumentando as chances de introdução de micro-organismos no interior do sistema de canais radiculares (LEONARDO *et al.*, 1997a,b). Incontestavelmente o operador deve, com rigor, manter a biossegurança, prevenindo a contaminação dos instrumentos e materiais obturadores. Inúmeros estudos enfatizam a necessidade da descontaminação dos cones de guta-percha imediatamente antes de sua utilização (SIQUEIRA *et al.*, 1998; ATTIN *et al.*, 2001; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; DA MOTTA *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2005; KAYAOGLU *et al.*, 2009).

Neste presente estudo, pudemos observar contaminação em 30% (9/30) das caixas de cones de guta-percha avaliadas, já em uso clínico. O percentual de 13,3% (4/15) foi correspondente às amostras obtidas por dentistas clínicos (grupo I) e, 16,6% (5/15) corresponderam às amostras fornecidas por especialistas em Endodontia (grupo II). Esperávamos que a contaminação fosse maior entre os especialistas devido ao fato das caixas terem sofrido maior uso, pois o número de tratamento de canais pelos especialistas é maior do que os realizados pelos

clínicos, portanto, as embalagens expostas continuamente durante o uso clínico estariam potencialmente sujeitas à contaminação. Entretanto, esta hipótese não foi confirmada, uma vez que a análise estatística mostrou que a diferença não foi significativa. Provavelmente, uma formação mais sólida deste profissional faz com que este tenha maior preocupação com a biossegurança, equilibrando a questão da contaminação pela manipulação frequente. Outra provável razão é que, por realizar um número maior de tratamentos, os cones das caixas se esgotem mais rapidamente, tornando-os menos susceptíveis à contaminação ambiental. Ressaltamos, contudo, que para confirmar ou refutar tais hipóteses é necessário que estudos futuros controlem o número de uso e o correlacione com a incidência de contaminação.

Com relação às técnicas de detecção de micro-organismos, a principal vantagem da técnica do cultivo é a natureza do amplo espectro que ela abrange, podendo identificar uma grande variedade de espécies na amostra, embora requeira longos períodos para avaliação e identificação de bactérias fastidiosas e exigentes. (SIQUEIRA & RÔÇAS, 2005). O caldo de tioglicolato foi o principal meio de enriquecimento utilizado no experimento dos cones de guta-percha, proporcionando nutrientes adequados ao crescimento de micro-organismos presentes usualmente em baixo número, ou de crescimento lento, assim como microrganismos exigentes e fastidiosos. Nos tubos onde o caldo de tioglicolato apresentou alteração de densidade óptica detectada visualmente, a contaminação foi confirmada com o método de Gram e o repique em tioglicolato. Isto indica que a turvação, possivelmente, originou-se da liberação de algum corante orgânico liberado utilizado por diversos fabricantes, problema este, já reportado na literatura

(MARCIANO *et al.*, 1993). Isto explica o fato das amostras 4, 19, 21, 22 e 23 não confirmarem a contaminação, embora tenham produzido turvação do meio. Apenas duas amostras apresentaram crescimento no meio ágar CLED, que é um meio de cultura para diferenciação, isolamento e enumeração de bactérias da urina. Este meio foi desenvolvido originalmente para suportar o crescimento de agentes patogênicos e contaminantes urinários, e foi empregado devido à facilidade de identificação de importantes patógenos relacionados com infecções cruzadas, sendo apropriado para isolamento de muitos micro-organismos de crescimento aeróbio, embora possa ser efetuada uma diferenciação de acordo com a fermentação da lactose e alguns testes de diagnóstico diretamente neste meio. Os organismos que fermentam a lactose irão reduzir o pH e alterar a cor do meio de verde para amarelo, conforme apresentado no **ANEXO II**. Nas amostras que exibiram crescimento neste meio, ficou evidenciada a presença de *Staphylococcus aureus* em ambas (caixas nºs 20 e 28). A classificação morfotintorial do método Gram confirmou a presença destes cocos Gram positivos. A caixa 8 evidenciou a presença de cocos Gram positivos e fungos, e as demais amostras exibiram algumas, a presença de bacilos Gram positivos, e outras bacilos Gram negativos que não evidenciados no meio CLED.

No grupo controle positivo, os cones intencionalmente contaminados por *Staphylococcus aureus* determinaram o crescimento microbiano em caldo tioglicolato, já evidente após 24 h, demonstrando a eficácia do método utilizado.

O meio de cultivo de ágar EMB-Teague, utilizado no experimento dos cones de papel absorvente, é um meio destinado a demonstração e isolamento de enterobactérias patogênicas para diferenciar as lactose positivas e as lactose

negativas, em semente primária, para o seu posterior isolamento e identificação.

Devido à freqüente contaminação dos cones de guta-percha nas caixas em que são armazenados, apresentado por nosso estudo, e também por outros anteriores (MONTGOMERY, 1971; NAMAZIKHAH *et al.*, 2000; GOMES *et al.*, 2005; KAYAOGLU *et al.*, 2009), é importante adotarmos na clínica um protocolo efetivo para descontaminação dos cones antes do uso. Com relação a isso, pesquisas avaliaram a capacidade antimicrobiana de inúmeras substâncias e evidenciaram sua efetividade na descontaminação de cones de guta-percha: hipoclorito de sódio (KOTAKA *et al.*, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 1998; CARDOSO *et al.*, 1999; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; DA MOTTA *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2005; OZALP *et al.*, 2006; COLETTI, 2006; ROYAL *et al.*, 2007; PANG *et al.*, 2007) glutaraldeído (SIQUEIRA *et al.*, 1998; DA MOTTA *et al.*, 2001), clorexidina (SIQUEIRA *et al.*, 1998; LUI *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2005; COLETTI, 2006; PANG *et al.*, 2007), álcool etílico (SIQUEIRA *et al.*, 1998), iodeto de polivinilpirrolidona (PVP-I) (KOTAKA *et al.*, 1998; DE SOUZA *et al.*, 2003) paraformaldeído (DE SOUZA *et al.*, 2003; ALBERGARIA *et al.*, 2007; NUNES *et al.*, 2005) *electron beam* (ATTIN *et al.*, 2001), entre outras. Apesar de cones de guta percha só suportarem métodos de esterilização a frio, inúmeras substâncias desinfetantes tiveram sua eficácia comprovada, revelando também ser este um método barato, rápido e acessível ao profissional. A contaminação microbiana verificada em nossos testes encontra amparo entre inúmeros estudos, que também evidenciaram a necessidade de descontaminação dos cones de guta-percha antecedendo imediatamente a obturação dos canais radiculares,

destacando-se estudos investigando a presença de contaminação microbiana em cones de guta-percha em embalagens lacradas (NAMAZIKHAH *et al.*, 2000; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; PANG *et al.*, 2007; KAYAOGLU *et al.*, 2009), e outros avaliando esta contaminação em embalagens já em uso clínico (NAMAZIKHAH *et al.*, 2000; PANG *et al.*, 2007; KAYAOGLU *et al.*, 2009).

Dentre as inúmeras soluções para desinfecção a frio que têm sido avaliadas, o período de tempo dessas substâncias na eliminação dos microorganismos oscila entre imediato (GOMES *et al.*, 2005), a longos períodos, até 72 horas (GOMES *et al.*, 2005), havendo portanto, a necessidade de que a prática clínica endodôntica esteja amparada por processos de desinfecção rápidos e seguros (SIQUEIRA *et al.*, 1998; CARDOSO *et al.*, 1999; GOMES *et al.*, 2005; COLETTI *et al.*, 2006; PANG *et al.*, 2007). A rapidez torna-se um fator de suma importância quando é necessária a desinfecção de vários cones utilizados na técnica de condensação lateral (GOMES *et al.*, 2005). Inúmeros estudos apontam que o hipoclorito de sódio é um agente efetivo e seguro para uma rápida desinfecção, mesmo em pequenas concentrações (SIQUEIRA *et al.*, 1998; KOTAKA *et al.*, 1998; CARDOSO *et al.*, 1999; DA MOTTA *et al.*, 2001; GAHYVA & SIQUEIRA, 2001; DE SOUZA *et al.*, 2003; GOMES *et al.*, 2005; OZALP *et al.*, 2006; COLETTI, 2006; ROYAL *et al.*, 2007; PANG *et al.*, 2007).

Com relação aos cones de papel, a permanência de umidade no interior dos canais, após realizados os procedimentos de desinfecção, poderá impedir o selamento adequado no momento da obturação dos canais (HABITANTE *et al.*, 1995). Portanto, cones de papel absorvente têm sido rotineiramente utilizados, retirados diretamente de suas embalagens, e introduzidos nos canais radiculares

para promover a secagem. Por esta razão estes devem estar livres de micro-organismos no momento de sua utilização, para que a cadeia asséptica seja respeitada (LEONARDO *et al.*, 1997b).

As embalagens de cones de papel absorvente podem ser apresentadas em caixas divididas em secções, onde os cones de papel são distribuídos, ou em embalagens tipo *cell pack*; que contêm 6 cartelas, e comportam 6 células. Em cada célula, os cones de papel são acondicionados em grupo de cinco unidades, o que dificulta a contaminação do conteúdo das outras células, caso elas permaneçam íntegras e sem ruptura.

No experimento em que avaliamos a contaminação em cones de papel absorvente de três marcas comerciais, a marca Roeko apresentou-se em caixas com seis divisões, contendo 180 unidades em tamanhos padronizados e denominadas estéreis pelo fabricante. A esterilidade destes cones foi confirmada por nosso experimento, assim como para os cones da marca Dentsply. Contudo, tal condição de esterilização pode ser extinta no momento da abertura do lacre quando expostos ao ambiente clínico desde a primeira utilização, necessitando que os profissionais recorram a novo processo para esterilizações (KUBO *et al.*, 1999b), isto não ocorreu com as embalagens tipo *cell pack*, da marca Dentsply, o que representou uma importante vantagem.

Os cones da marca Endopoints, denominados esterilizados nas embalagens, demonstraram contaminação em todas as amostras testadas. Observamos também, que as embalagens *cell pack* desta marca não apresentavam segurança quando manuseadas. Na coleta das amostras, muitas

células se romperam, expondo outros cones, que foram descartados para os testes.

Em recente visita a filial brasileira da fabricante de cones Dentsply (Petrópolis – RJ), com a participação de alunos de Mestrado e de Especialização em Endodontia da Universidade Estácio de Sá, pudemos conhecer e acompanhar o processo de fabricação de inúmeros materiais de consumo em Odontologia, e, mais especificamente, dos cones de guta-percha e papel. Como a manipulação na linha de produção tanto dos cones de guta-percha como dos de papel é feita, em grande parte, manualmente, algumas medidas de assepsia foram verificadas. O primeiro ponto observado foi o controle microbiológico do ar atmosférico, realizado com o auxílio de placas contendo meio de cultura sólido, deixadas em cada dependência para posterior cultura e avaliação do potencial de contaminação do ambiente. Outro ponto observado na manipulação dos cones de guta-percha e de papel é que os funcionários são obrigados a fazer a antissepsia das mãos com álcool 70% em gel a cada 30 min, uma vez que suas mãos não trabalham enluvasadas. Ao final do processo, após a inserção nas embalagens, os cones de papel absorvente são enviados para um laboratório especializado que promoverá a esterilização dos mesmos por radiação gama, enquanto que, os cones de guta-percha estarão destinados ao consumo imediato. Desta maneira, pôde-se observar o empenho do controle de produção sob condições assépticas. Contudo, muitas diferenças poderão ocorrer na tecnologia de fabricação adotada pelos diferentes fabricantes, assim como no controle da contaminação dos mesmos, que é requerido em todos os níveis de produção, empacotamento e distribuição comercial. É importante acrescentar que a forma de armazenamento das

embalagens pelas distribuidoras também influenciará nas condições de esterilidade desses materiais até o momento de seu uso.

Especialmente com relação aos cones de papel, é primordial ressaltar que, na prática clínica, o profissional não tem como constatar a presença de contaminação microbiana nestes cones, dependendo, portanto, da informação quanto à esterilização provida pelo fabricante. Lamentavelmente, a precisão desta informação fornecida pelo fabricante de alguns cones testados, no presente estudo, não pôde ser confirmada.

## CONCLUSÃO

---

Nosso estudo demonstrou que:

1. Das 30 caixas de cones de guta-percha acessórios examinadas, 15 caixas provenientes de dentistas clínicos gerais e 15 de especialistas, 9 (30%) apresentaram contaminação bacteriana nos cones testados. Sendo 4 (13,3%) amostras provenientes de clínicos gerais e 5 (16,6%) amostras de especialistas em Endodontia;
2. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa no índice de contaminação dos cones de guta-percha das caixas testadas em relação à sua proveniência; e
3. Das três marcas de cones de papel absorvente investigadas não foi observada presença de contaminação bacteriana nos cones das marcas Denstply e Roeko. Os cones testados da marca Endopoints apresentaram contaminação bacteriana em todas as amostras examinadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE (2005). Ding the normal flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 43: 5721-32.

Albergaria S, Andrade J, Barral D, Barral T, Araújo R (2007). Formaldehyde levels in absorbent paper points through hplc. *Arq Odontol* 43: 144-8.

Anbu R, Nandini S, Velmurugan N (2010). Volumetric analysis of root fillings using spiral computed tomography: an *in vitro* study. *Int Endod J* 43: 64-8.

Attin T, Zirkel C, Pelz K (2001). Antibacterial properties of elétron beam sterilized gutta-percha cones. *J Endod* 27: 172-4.

Buchbinder M (1966). Sterilization of cotton points and gutta-percha points: description of technique. *NYJD* 36: 200-1.

Cardoso CL, Kotaka CR, Redmerski R, Guilhermetti M, Querioz AF (1999). Rapid decontamination of gutta-percha cones with sodium hypochlorite. *J Endod* 25: 498-501.

Chogle S, Mickel AK, Huffaker SK, Neibaur B (2005). An *in vitro* assessment of iodoform gutta-percha. *J Endod* 31: 814-6.

Coletto JAM (2006). *Ação antimicrobiana de desinfetantes em cones de gutta-percha e cones sintéticos de polímeros de poliéster*. Dissertação de mestrado, Faculdade de Odontologia, Universidade de Taubaté, São Paulo. 47p.

Da Motta PG, De Figueiredo CB, Maltos SM, Nicoli JR, Ribeiro Sobrinho AP, Maltos KL, Carvalhais HP (2001). Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *Int Endod J* 34: 435-9.

De Souza ER, de Souza EA, Sousa-Neto MD, Pietro RCLR (2003). *In vitro* evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. *Pesq Odontol Bras* 17: 75-7.

Edwards RO, Bandyopadhyay S (1981). Physical and mechanical properties endodontic absorbent paper points. *J Endod* 7: 123-7.

Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Moller AJR (1982). Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res* 90: 134-44.

Friedman CM, Sandrik JL, Heuer MA, Rapp GW (1975). Composition and mechanical properties of gutta-percha endodontic points. *J Dent Res* 54:921-5.

Friedman CE, Sandrik JL, Heuer MA, Rapp GW (1977). Composition and physical properties of gutta-percha endodontic filling materials. *J Endod* 3: 304-8.

Gahyva SM, Siqueira JF Jr (2001). Avaliação da contaminação de cones de gutta-percha disponíveis comercialmente. *JBE* 2: 193-95.

Gomes BP, Vianna ME, Matsumoto CU, Rossi VP, Zaia AA, Ferraz CC, Souza Filho FJ (2005). Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 100: 512-7.

Habitante SM, Bombana AC, Antoniazzi JH (1995). Estudo comparativo in vitro da secagem do canal radicular, variando-se o diâmetro das cânulas, o tempo de aspiração e associando-se ou não ao uso de cones de papel absorvente. *Rev ABO Nac* 3: 50-5.

Higgins JR, Newton CW, Palenik CJ. The use of paraformaldehyde powder for the sterile storage of gutta-percha cones (1986). *J Endod* 12: 242-8.

Holland R, Nery MJ, Souza V, Mello W, Bernabé PFE, Filho JAO (1991). Efeito da esterilização em estufa no poder de absorção dos cones de papel. *Odontol Mod* 18: 6-8.

James BL, Brown CE, Legan JJ, Moore K, Vail MM (2007). An *in vitro* evaluation of the contents of root canals. *J Endod* 33: 1359-63.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ (1965). The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 20: 340-9.

Kayaoglu G, Gurel M, Omurlu H, Bek ZG, Sadik B (2009). Examination of gutta-percha cones for microbial contamination during chemical use. *J Appl Oral Sci* 17: 244-7.

Koppang HS, Koppang R, Solheim T, Aarnes H, Stolen SO (1989). Cellulose fibers from endodontic paper points as an etiological factor in postendodontic periapical granulomas and cysts. *J Endod* 15: 369-72.

Kotaka CR, Redmerski R, Queiroz AF, Cardoso CL (1998). Descontaminação rápida de cones de gutta-percha na prática endodôntica. *Rev FOB* 6:73-80.

Kubo CH, Gomes APM, Jorge AOC (1999a) . Influência da esterilização em estufa sobre cones de papel absorvente para endodontia. *Rev Fac Odontol São José dos Campos* 2: 1-7.

Kubo CH, Gomes APM, Jorge AOC (1999b). Efeitos da autoclavagem na velocidade e capacidade absorvente de cones de papel empregados em Endodontia. *Rev Odontol Univ São Paulo* 13: 383-9.

Leonardo MR, Silva LAB da, André RFG, Bonifácio KC, Silva LAB, Ito IY (1997a). Evaluation of the sterility and antimicrobial activity of gutta-percha cones. *Braz Endod J* 2: 51-4.

Leonardo MR, Silva LAB da, André RFG, Bonifácio KC, Silva LAB, Ito IY (1997b). Evaluation of the sterility of absorbent paper points. *Braz Endod J* 2: 31-2.

Leonardo MR, Leal JM (1998). Materiais obturadores de canais radiculares. In *Endodontia: Tratamento de canais radiculares*. São Paulo: Panamericana 348-54.

Lui JN, Sae-Lim V, Song KP, Chen NN (2004). In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta-percha points on *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 37:105-3.

Maniglia-Ferreira C, Silva Jr JBA, Paula RCM, Feitosa JPA, Cortez DGN, Zaia AA (2005). Brazilian gutta-percha points. Part I: chemical composition and X-ray diffraction analysis. *Braz Oral Res* 19:193-7.

Marciano J, Michalesco PM, Abadie MJM (1993). Stereochemical structure characterization of dental gutta-percha. *J Endod* 19: 31-4.

Marciano J, Michalesco PM (1989). Dental gutta-percha: chemical composition, X-ray identification, enthalpic studies, and clinical implications. *J Endod* 15: 149-53.

Martins VJM, Zöllner N, Zöllner NA (2006). Avaliação da eficácia dos métodos de esterilização de cones de papel absorvente. *J Bras Endod* 6: 70-7.

Miller WD (1894). An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dent Cosmos* 36: 505-27.

Möller AJR, Fabricius L, Dahlén G, Öhman AE, Heyden G (1981). Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 89: 475-84.

Montgomery S (1971). Chemical decontamination of gutta-percha cones with polyvinylpyrrolidone-iodine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 31: 258-66.

Moorer WR, Genet JM (1982). Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 53: 503-7.

Namazikhah MS, Sullivan DM, Trnavsky GL (2000). Gutta-percha: a look at the need for sterilization. *J Calif Dent Assoc* 28: 427-2.

Nunes AF, Almeida LR, Albergaria SJ (2005). Avaliação *in vitro* de formaldeído residual em canais radiculares. *J Med Biol Sci* 4: 38-4.

Orstavick D, Möller B (1985). Bacteriological studies on endodontic paper points. *Acta Odontol Scand* 43: 91-5.

Ozalp N, Okte Z, Ozcelik B (2006). The rapid sterilization of gutta-percha cones with sodium hypochlorite and glutaraldehyde. *J Endod* 32: 1202-4.

Pang NS, Jung IY, Bae KS, Baek SH, Lee WC, Kum KY (2007). Effects of short-term chemical disinfection of gutta-percha cones: identification of affected microbes and alterations in surface texture and physical properties. *J Endod* 33: 594-8.

Pécora JD, Silva RG, Vansan LP, Costa WF (1988). Avaliação *in vitro* do número e do tempo de permanência de cones de papel absorvente, e a influência da aspiração final, na secagem do canal radicular. *Rev Odontol Univ São Paulo* 2: 81-5.

Pereira OLS (2008). *Avaliação da contaminação de cones de guta-percha e resilon utilizados no tratamento endodôntico*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Odontologia, Universidade Estácio de Sá. Rio de Janeiro, 46p.

Podbielski A, Boeckh C, Haller B (2000). Growth inhibitory activity of gutta-percha points containing root canal medications on common endodontic bacterial pathogens as determined by an optimized quantitative *in vitro* assay. *J Endod* 26: 398-403.

Rawle L, Adams D, Whitherley J (1985). Antibacterial activity in paper points for endodontic therapy. *Int Endod J* 18:187-200.

Royal MJ, Williamson AE, Drake DR (2007). Comparison of 5,25% sodium hypochlorite, MTAD, and chlorhexidine in the rapid disinfection of polycaprolactone-based root canal filling material. *J Endod* 33: 42-4.

Schilder H (2006). Filling root canals in three dimensions. *J Endod* 32: 281-90.

Short R, Dorn SO, Kuttler S (2003). The crystallization of sodium hypochlorite on gutta-percha cones after the rapid-sterilization technique: an SEM study. *J Endod* 29: 670-3.

Siqueira JF Jr, Rôças IN (2008a). Update on endodontic microbiology: candidate pathogens and patterns of colonisation. *ENDO* 2: 7-20.

Siqueira JF Jr, Rôças IN (2008b). Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 34: 1291.

Siqueira JF Jr, Rôças IN (2005). Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part I- Current molecular technologies for microbial diagnosis. *J Endod* 31: 411-22.

Siqueira JF Jr (2002). Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94: 281-93.

Siqueira JF Jr (2001). Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 34:1-10.

Siqueira JF Jr, Silva CH, Cerqueira MC, Lopes HP, Uzeda M (1998). Effectiveness of four chemical solutions in eliminating *Bacillus subtilis* spores on gutta-percha cones. *Endod Dent Traumatol* 114: 124-6.

Só MVR, Bammann LL, Silveira C, Marcondes M (2000). Análise microbiológica de pontas de papel absorvente. *Rev Saúde* 26: 36-44.

Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U (1998). Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85: 86-93.

Sundqvist G (1976). Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Dissertation. Umea, Sweden. University of Umea.

Tanomaru JMG, Pappen FG, Tanomaru Filho m, Spolidorio DMP, Ito IY (2007). *In vitro* antimicrobial activity of different gutta-percha points and calcium hydroxide pastes. *Braz Oral Res* 21: 35-9.

Tartarotti E, Goldschmidt AI, De Oliveira APM, Koper PMP, Faresin R (2004). Avaliação microbiológica de pontas de papel absorvente e cones de guta-percha. *Sci Clin Odont*, Recife, 3: 103-9.

Torabinejad M, Kutsenko D, Machnick TK, Ismail A, Newton CW (2005). Levels of evidence for the outcome of nonsurgical endodontic treatment. *J Endod* 31: 637-6.

Torabinejad M, Corr R, Handysides R, Shababang S (2009). Outcomes of nonsurgical retreatment and endodontic surgery: a systematic review. *J Endod* 35: 930-7.

Valois CR, Silva LP, Azevedo RB (2005). Structural effects of sodium hypochlorite solutions on gutta-percha cones: atomic force microscopy study. *J Endod* 31: 749-51.

Vianna ME, Horz HP, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BP (2007). Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 22: 411-8.

Victorino FR, Luckiantchuk M, Garcia LB, Bramante CM, De Moraes IG, Hidalgo MM (2008). Capacidade de absorção e toxicidades de cones de papel após esterilização. *RGO*, Porto Alegre 56: 411-5.

Wilcox L, Wiemann AH (1995). Effect of a final alcohol rinse on sealer coverage of obturated root canals. *J Endod* 21: 256-8.

**ANEXO I – Composição do caldo de tioglicolato- *Fluid Thyoglycollate Medium***

(FTM), Merck.

Digerido pancreático de caseína.....	15g
Extrato de levedura.....	5g
Dextrose.....	5,5g
Cloreto de sódio.....	2,5g
L-cistina.....	0,5g
Tioglicolato de sódio.....	0,5g
Resazurina.....	0,001g
Ágar.....	0,75g
Água destilada q.s.p.....	1000ml

## ANEXO II- Ágar CLED

### Fórmula\* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de gelatina.....	4,0g
Hidrolisado pancreático de caseína.....	4,0
Extrato de carne de vaca.....	3,0
Lactose.....	10,0
L-Cistina.....	0,128
Azul de bromotimol.....	0,02
Ágar.....	15,0

pH 7,3±0,2

\*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho

### Morfologia típica das colônias no ágar CLED.

ORGANISMOS	MORFOLOGIA DAS COLÔNIAS
<i>Escherichia coli</i>	Colônias amarelas, opacas; meio amarelo
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Colônias amarelas a azuis esbranquiçadas, muitas vezes mucóides; meio amarelado
<i>Proteus</i>	Colônias azuis translúcidas; meio verde azulado a azul
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colônias verdes com superfície típica prateada e periferia rugosa; meio azul
<i>Enterococcus</i>	Colônias de pequena dimensão, amarelas com cerca de 0,5 mm de diâmetro; meio amarelo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colônias amarelas escuras, de cor uniforme; meio amarelo
<i>Staphylococcus</i> negativos para a coagulase	Colônias amarelas pálidas, mais opacas que o <i>Enterococcus</i>

Adaptado de BD Diagnostic Systems Europe  
<http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9062> (acesso em 08/04/2010).

**ANEXO III- Composição do caldo TSB- *Tryptic soy Broth*- Merck.**

Composição típica (g/l)

Peptona de origem não animal.....20,0

D(+) glucose.....2,5

Cloreto de sódio.....5,0

Fosfato dipotássico hidrogenado.....2,5

#### **ANEXO IV- Ágar EMB-TEAGUE**

Composição por litro:	
Peptona.....	10,0g
Sacarose.....	5,0g
Hidrogenofosfato dipotássico.....	2,0g
Lactose.....	5,0g
Eosina amarela.....	0,4g
Azul de metileno.....	0,065g
Ágar.....	12,0g

Finalidade: meio de cultivo destinado a demonstração e isolamento de enterobactérias patógenas para diferenciar as lactose positivas (colônias cor verde) e as lactose negativas (colônias cor do meio), em semeadura primária, para o seu posterior isolamento e identificação.

## ANEXO V - Ágar sangue de carneiro

### Composição por litro

Mistura especial de peptona.....	23g
Amido.....	1,0g
Cloreto de sódio.....	5,0g
Ágar.....	10g

Meio rico em nutrientes destinado a isolamento de bactérias anaeróbias, aeróbias ou facultativas. Ideal para o isolamento de *Streptococcus* beta-hemolíticos e alfa-hemolíticos em semeadura primária. A conservação dos eritrócitos íntegros favorecem a formação de halos de hemólise nítidos, úteis para a diferenciação de *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.*

## ANEXO VI – Telegrama à Endopoints

CORREIOS TELEGRAMA		Para enviar telegrama ligue 0800 5700100 ou acesse www.correios.com.br	
<p>CONTEÚDO DA MENSAGEM</p> <p>&lt;&lt;A/C DEPARTAMENTO TÉCNICO DA ENDOPOINTS EM PESQUISA REALIZADA POR NÓS MESTRANDOS EM ENDODONTIA CONSTATAMOS A PRESENÇA DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM AMOSTRAS DE CONES DE PAPEL 2ª SÉRIE ARMAZENADOS EM EMBALAGENS CELL PACK DITOS ESTERILIZADOS PORTANDO VIMOS INFORMAR E SOLICITAR MAIORES ESCLARECIMENTOS.RESSALTAMOS QUE FORAM FEITOS 3 TESTES MICROBIOLÓGICOS.TAMBÉM AVALIAMOS CONES DE OUTROS FABRICANTES. SEGUEM OS LOTES 96089P- 94059P/91092 À DISPOSIÇÃO PARA NOVOS ESCLARECIMENTOS DRª MARCIA MOREIRA NACIF(REPRESENTANTE GRUPO DE PESQUISA) MCNACIF@GMAIL.COM &gt;&gt;</p> <p>Cópia do telegrama no. MB016323879 postado em 09/02/2010 às 17:27, destinado a &lt;&lt;ENDO POINTS INDUSTRIAL DA AMAZÔNIA&gt;&gt; Avenida BARÃO DO RIO BRANCO 831 CENTRO 69400-000 – Manacapuru/AM</p>			
DOBRAR			
REMETENTE	CÓPIA DE TELEGRAMA	<b>USO EXCLUSIVO DOS CORREIOS</b> <input type="checkbox"/> 1 Mudou-se <input type="checkbox"/> 6 Recusado <input type="checkbox"/> 2 Ausente <input type="checkbox"/> 7 Falecido <input type="checkbox"/> 3 Desconhecido <input type="checkbox"/> 8 Não existe o número indicado <input type="checkbox"/> 4 Endereço insuficiente. Faltou:..... <input type="checkbox"/> 5 Outros (Especificar) .....	
	DESTINATÁRIO MARCIA CHRISTINA ANDRÉ MOREIRA NACIF Rua Conde de Bonfim 232 SALA 507 Tijuca 20520-054 - Rio de Janeiro/RJ	NÚMERO DO TELEGRAMA MA343853959BR 41410  TL4H	

## ANEXO VII – Resposta da Endopoints

### Contaminação microbiana - Lotes 96089P/94059P/91092P

LABORATÓRIO X

de **exportacao** <exportacao@tanari.com.br> [ocultar detalhes](#) 11 fev  
para **mcnacif@gmail.com**  
cc **tanari\_tanariman@hotmail.com**  
data **11 de fevereiro de 2010 16:11**  
assunto **Contaminação microbiana - Lotes  
96089P/94059P/91092P**

**Prezada Dra. Márcia,**

**Recebemos por fax seu relatório ao Departamento Técnico da Endo Points, pelo qual agradecemos.**

**Encaminhamos à diretoria da empresa, para autorizar fazermos uma investigação sobre esse caso isolado, pois procuramos sempre oferecer aos nossos distinguidos clientes um produto de alta qualidade e sem contaminação.**

**Vamos checar os lotes mencionados para podermos fazer uma avaliação completa, e, que retornaremos à V. Sa., com um esclarecimento. Estamos até dispostos em efetuar a reposição das caixas de Cell Pack, já que zelamos pela qualidade dos nossos produtos. Queira, por favor, nos mencionar o número das Notas Fiscais, onde aparecem as citadas caixas, e, se as mesmas estavam lacradas no momento de sua análise.**

**Atenciosamente,**

**Cayo Vasconcelos  
Endo Points Industrial da Amazônia Ltda.  
E-mail: [exportacao@tanari.com.br](mailto:exportacao@tanari.com.br)**

## ANEXO VIII - Artigo enviado para publicação

### AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE

### CONES DE PAPEL ABSORVENTE

### EVALUATION OF CONTAMINATION OF ABSORBENT PAPER POINTS

**Bernardo Mattos Almeida** (mestrando em Endodontia – UNESA); **Marcia Christina André Moreira Nacif** (mestranda em Endodontia – UNESA); **Patrícia dos Santos Marotta** (mestranda em Endodontia – UNESA); **Thiago de Oliveira Ribeiro** (mestrando em Endodontia – UNESA); **Flávio Rodrigues Ferreira Alves** (professor doutor – UNESA); **Julio Cezar Machado de Oliveira** (professor doutor – UNESA);.

**Marcia Christina André Moreira Nacif.** Rua Conde de Bonfim nº232, 507, Tijuca, Rio de Janeiro, CEP: 20520-054, RJ, Brasil. [mcnacif@gmail.com](mailto:mcnacif@gmail.com). Tel: (021)2264-0052.

**Resumo:** A umidade no sistema de canais radiculares poderá interferir no perfeito selamento da obturação. O papel absorvente na forma de cones é o último material a ser inserido nos canais antes da obturação dos canais radiculares. Neste contexto, instrumentos e materiais devem estar livres de micro-organismos que poderão contribuir para a instalação e persistência das patologias perirradiculares. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de contaminação microbiana em três marcas comerciais de cones de papel absorvente denominadas esterilizadas. Foram avaliadas as marcas Dentsply e Endopoints em apresentação *cell pack* e a marca Roeko em embalagem plástica com subdivisões. Conclusão: As marcas Dentsply e Roeko não evidenciaram contaminação. A marca Endopoints evidenciou contaminação em todas as amostras avaliadas.

**Palavras-chave:** cones de papel absorvente, contaminação, esterilização.

**Abstract:** The humidity into root canal system may interfere with the perfect sealing of the filling. The absorbent paper points are the latest material to be inserted before the root canal filling. In this context, instruments and materials should also be free of microorganisms that may contribute to the establishment and persistence of periapical diseases. The aim of this study was to evaluate the presence of microbial contamination in three brands of absorbent paper points named sterile. We evaluated Dentsply, Endopoints and Roeko packages. Conclusion: Dentsply and Roeko brands showed no contamination. Endopoints showed contamination in all samples.

**Key words:** absorbent paper points, contamination, sterility.

## INTRODUÇÃO

O sucesso no tratamento das patologias de origem endodôntica reside no controle da infecção microbiana no sistema de canais radiculares. O fracasso na eliminação ou diminuição da carga microbiana quer no preparo químico e mecânico, na medicação intracanal ou após a obturação, assim como, a falta de um rígido protocolo da assepsia, ou selamento coronário inadequado estão entre fatores que convergem para o fracasso do tratamento.

O acesso de micro-organismos ao interior do sistema de canais radiculares comumente inicia-se através de processo da cárie, trauma ou procedimentos iatrogênicos (9). Estudos relatam que quando o tratamento endodôntico é realizado sob condições de assepsia, e de acordo com princípios clínicos, a taxa de sucesso é geralmente elevada (13). Eliminar ou reduzir a carga microbiana, assim como, prevenir a introdução de novos micro-organismos nos canais radiculares, ou mesmo impedir a reinfecção por micro-organismos da saliva são os objetivos a serem alcançados pelo tratamento endodôntico (10).

Com relação à obturação dos canais, seu objetivo é conseguir um perfeito selamento do canal radicular, de modo a impedir o acesso das bactérias remanescentes aos tecidos perirradiculares e a nutrientes, removendo espaços que contribuem para o contínuo crescimento microbiano. O preenchimento radicular visa também, sepultar as bactérias que resistiram aos procedimentos da terapêutica endodôntica e ainda permaneceram nas paredes do canal ou nos túbulos dentinários, uma vez que podem sustentar a inflamação perirradicular impedindo o início do processo de reparação (11). Após o protocolo de desinfecção (preparo químico e mecânico seguido ou não de medicação intracanal), a condição de desinfecção será mantida pela obturação e nesta etapa, a umidade no interior do sistema de canais radiculares pode atuar como fator limitante ao perfeito selamento marginal da obturação (2). Para tentar solucionar este

problema, vários métodos de secagem dos canais radiculares têm sido relatados: álcool (15), cânulas de aspiração associadas a papel absorvente (2) e cones de papel absorvente (6). Dentre estes, o uso de cones de papel absorventes é o mais utilizado com esta finalidade, sendo também aplicado para coleta de amostras, para cultivo microbiano e introdução de medicamentos intracanal (3).

Leonardo *et al.* (5) evidenciaram que instrumentos contaminados podem introduzir micro-organismos e seus produtos tóxicos para o interior dos canais, podendo contribuir para a instalação e persistência de patologias endodônticas. Dentro deste contexto, cones de guta-percha e cones de papel absorvente também devem estar livres da presença de micro-organismos no momento de sua utilização.

Edwards *et al.* (1) relatam que as pontas de papel absorventes são indicadas para secagem prévia à obturação, aplicação de medicação antibacteriana, obtenção de amostra de cultura, contenção de hemorragia apical e presença ou não de exsudato no interior dos canais radiculares; e, sendo estes cones, os últimos materiais inseridos nos canais antes da obturação, são importantes para o sucesso da terapia endodôntica.

Quatro marcas comerciais de cones de papel foram testadas por Orstavick & Möller (7) quanto a sua esterilidade e atividade antimicrobiana; os testes de esterilidade seguiram os padrões propostos pela International Organization of Standardization (ISO). As marcas testadas foram: Absorbent points sterile (Johnson & Johnson-USA); Pappersspetsar (Johnson & Johnson-Suécia); Absorbent paper points sterilized (A/S Norsk Dental Depot-Noruega) e Absorbent paper points 'PD' (Produits Dentaire S.A.-Suíça). Os autores não evidenciaram crescimento microbiano em qualquer amostra. Uma pequeno halo de inibição ficou evidenciado pela marca 'PD'.

A atividade antibacteriana de cones de papel absorvente foi testada por Rawle *et al.* (8) nas marcas Kerr/Sybron Absorbent Paper Points, Johnson & Johnson Paper Points, Produits Dentaire Paper Points e Endic Absorbent Paper Points, onde não evidenciaram

contaminação. Nas marcas Kerr/Sybron; Johnson & Johnson e Produtos Dentaire não houve zona de inibição, com exceção da marca Endic Absorbent Paper Points (Endic 40 e Endic 50) que exibiu atividade antibacteriana comprovada contra micro-organismos do biofilme dental.

Amostras de cones de papel retiradas de embalagens lacradas foram avaliadas por Leonardo *et al.* (5) num total de noventa e seis cones de papel das marcas: Tanari (embalagem sortida e individual), Conne e Odahcan. Foi utilizado meio de tioglicolato (Difco-Brasil), e incubados por 20 dias a 37°C em estufa bacteriológica. Todas as amostras exibiram contaminação; sendo Tanari: 70,8%, na embalagem sortida, e na individual: em 66,6%, e Odahcan e Conne em 4,2%. Os autores concluíram que os cones de papel deveriam ser esterilizados antes de sua utilização.

Avaliação realizada por Só *et al.* (12) analisou 5 marcas de cones de papel absorvente obtidas em caixas lacradas das seguintes marcas: Tanari, Roeko, Dentsply, Herpo e Conne. As amostras foram inseridas em meio de tioglicolato (Oxoid-England) e mantidas por 14 dias em estufa a 35°C. Os cones das marcas Roeko (1ª e 2ª séries) e Dentsply (1ª série) não mostraram contaminação. Os cones da marca Dentsply (2ª série) exibiram 100% de contaminação. A marca Conne (1ª e 2ª séries); e Herpo (1ª série) evidenciaram 6,7%, enquanto que a Herpo (2ª série) evidenciou contaminação de 20%. Os cones da marca Tanari (1ª série) mostraram 66,7% de contaminação.

Tartarotti *et al.* (14), que avaliaram a contaminação em pontas de papel absorvente e pontas de guta-percha em caixas já abertas em uso. Treze pontas da marca Endopoints foram divididas em dois grupos (1ª e 2ª série), cada grupo dividido em dois subgrupos. O grupo I (1ª série) foi composto de 4 pontas nº 30 e 3 pontas nº 40. O grupo II (2ª série) recebeu 4 pontas nº 55 e 2 pontas nº 60. O estudo comprovou a contaminação de todas as amostras.

Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de contaminação em cones de papel absorventes de diferentes marcas, embalagens seladas e apresentados denominados esterilizados.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Este estudo teve como finalidade avaliar a presença de contaminação microbiana em 114 cones de papel absorventes denominados esterilizados pelo fabricante, de três diferentes marcas comerciais, de calibre 0,45 a 0,80.

Toda a manipulação dos cones foi realizada no interior de uma capela microbiológica, composta por uma cabine de proteção biológica previamente descontaminada com etanol 70% e esterilizada por luz ultravioleta durante 15 min.

As marcas avaliadas foram Roeko-Coltène/Whaledent (Langenau, Alemanha) (Fig. 01), Dentsply-Maillefer (Ballaignes, Suíça) (Fig. 02), Endopoints (Manacapuru, Brasil) (Fig. 03). Os cones das marcas Dentsply e Endopoints apresentavam-se em embalagens tipo *cell-pack*, enquanto que os da Roeko estavam em embalagem única não individualizada (caixa plástica com divisões). Em todas as caixas testadas constava no rótulo a indicação de que os cones estavam esterilizados. No total foram avaliadas nove caixas de cones de papel absorvente, lacradas, sendo três caixas para cada marca. Os cones foram divididos em grupos de acordo com sua marca, e em subgrupos de acordo com seus lotes, conforme segue: grupo 1- Dentsply nos.108694B, 078956B, 625381; grupo 2- Endopoints nos. 96089P, 94059P, 91092; grupo 3- Roeko nos. 214468, 214341, 218482 (Tabela I).

**Tabela I: Lotes de cones de papel avaliados e numeração dos tubos teste**

MARCA	1º LOTE	2º LOTE	3º LOTE
Dentsply	108694B tubos n <sup>os</sup> .1 / 6	078956B tubos n <sup>os</sup> . 7 / 12	625381 tubos n <sup>os</sup> .13 / 18
Roeko	214468 tubos n <sup>os</sup> .19 / 24	214341 tubos n <sup>os</sup> . 25 / 31	218482 tubos n <sup>os</sup> . 32 / 36
Endpoints	94059P tubos n <sup>os</sup> . 37 / 43	96089P tubos n <sup>os</sup> . 44 / 49	91092 tubos n <sup>os</sup> . 5 0/ 54

Tubos contendo meio de cultura foram numerados, de acordo com os respectivos grupos e subgrupos. Foram testados dois cones (Endpoints, Dentsply e Roeko) de cada calibre, de cada célula, ou divisão. Os cones foram imersos em caldo de cultivo TSB (triptcaseína de soja) totalizando 54 tubos. Somados a isso, dois controles negativos para cada grupo: sendo um tubo fechado apenas com o caldo de cultivo TSB, e um outro tubo de TSB mantido aberto dentro da câmara microbiológica durante o experimento. Como controle da eficácia do meio de cultura utilizou-se uma amostra com dois cones contaminados por saliva humana (controle positivo) para cada grupo. Ressaltamos que todas as amostras foram coletadas sob rígida assepsia (Tabela II).

**Tabela II: Distribuição dos grupos por quantidade de cones de papel, amostras, repetições e tubos/testes.**

Marca	Nº cones Selecionados	Nº caixas examinadas	Nº de tubos/testes	Nº total de cones
Dentsply	12	3	18	36
Endpoints	12	3	18	36
Roeko	12	3	18	36
Controle negativo	-	-	6	-
Controle positivo	2	3	3	6
Totais	-	-	63	114

(-) Não aplicável ou irrelevante

Os tubos foram então armazenadas a 37°C em estufa bacteriológica, e duas leituras foram realizadas para observação do grau de crescimento microbiano, uma após 24 horas e outra após 48 horas.

Após a leitura dos resultados, os tubos que apresentaram turbidez foram agitados em vórtex por 1 min para homogeneização e em seguida foi realizada semeadura por estriamento com o auxílio de alças de platina esterilizadas. Foi aplicada a técnica de esgotamento para evidenciação de enterobactérias e meio seletivo em placas de ágar sangue de carneiro e ágar EMB-Teague (Eosina-Azul de Metileno), fornecidos pela Plast Labor, Brasil. Os tubos que não apresentaram sinais de crescimento microbiano foram mantidos em estufa bacteriológica a 37°C por até 21 dias para confirmação de ausência de contaminação.

## **RESULTADOS**

Aos tubos contendo os cones de papel das marcas Dentsply e Roeko não evidenciaram qualquer crescimento microbiano nos diferentes períodos de tempo.

Os cones da marca Endopoints mostraram contaminação em todas as amostras avaliadas após 24 horas de incubação. O nível de contaminação foi evidenciado pela intensa turbidez, com presença de halo de fermentação.

A semeadura de uma alíquota do caldo TSB das amostras da marca Endopoints em ágar sangue e EMB revelou crescimento em todas as placas, confirmando a contaminação bacteriana. No ágar sangue, foi verificado a presença de hemólise na maioria das placas. O departamento técnico da Endo Points foi comunicado por nós, quanto aos resultados encontrados; em resposta, informaram-nos que estariam procedendo à investigação sobre o caso isolado e uma avaliação completa.

## **DISCUSSÃO**

A redução ou eliminação dos micro-organismos do sistema de canais radiculares e a prevenção de nova infecção dos canais obturados são alguns dos objetivos principais do tratamento endodôntico. A carga bacteriana pode ser eliminada ou diminuída a níveis compatíveis com a saúde por meio do preparo químico e mecânico e da medicação intracanal.

A permanência de umidade no interior dos canais, após realizados os procedimentos de desinfecção e preparo químico e mecânico, poderá impedir o selamento adequado proporcionado pela obturação dos canais. Portanto, cones de papel absorvente têm sido rotineiramente utilizados, diretamente de suas embalagens, e introduzidos nos canais radiculares para promover a secagem. Por esta razão, estes devem estar livres de micro-organismos no momento de sua utilização, para que a cadeia asséptica seja respeitada.

As embalagens de cones de papel absorvente podem ser apresentadas em caixas divididas em secções, onde os cones de papel são distribuídos. Outra forma de apresentação é chamada de *cell pack*, e os cones de papel são acondicionados em grupo de cinco unidades, eliminando a necessidade de esterilização antes do uso.

As amostras de cones de papel das marcas Dentsply e Endopoints utilizadas neste estudo apresentaram-se em embalagem *cell pack*, denominados esterilizados pelo fabricante. As embalagens continham 6 cartelas (uma cartela de cada calibre de cone); cada cartela comportava 6 células, e cada célula apresentava 5 unidades de cone de papel.

A marca Roeko apresentou-se em caixas com seis divisões, cada divisão comportava um calibre de cone, contendo 180 unidades em tamanhos padronizados e denominados esterilizados pelo fabricante. Contudo, esta condição de esterilização pode ser extinta no momento da abertura do lacre quando expostos ao ambiente clínico desde a primeira utilização, necessitando que os profissionais recorram a novo processo para esterilização (4); isto não ocorreu com as embalagens tipo *cell pack*, uma importante vantagem.

Os cones da marca Endopoints, denominados esterilizados nas embalagens, demonstraram contaminação em todas as amostras testadas. Observamos também, que as embalagens *cell pack* não apresentavam segurança quando manuseadas. Já que na coleta das amostras, muitas células se romperam expondo outros cones; estes não foram utilizados para os testes.

É importante ressaltar que, na prática clínica o profissional não tem como constatar a presença de contaminação microbiana nos cones de papel, dependendo, portanto, da informação quanto à esterilização provida pelo fabricante. Lamentavelmente a precisão desta informação fornecida pelo fabricante de algumas amostras testadas não pôde ser confirmada.

## CONCLUSÃO

Dentre as marcas comerciais, duas (Dentsply e Roeko) não apresentaram contaminação dos cones de papel em todas as amostras testadas.

Todos os cones da marca Endopoints demonstraram contaminação em grau elevado.

## BIBLIOGRAFIA

1. EDWARDS, R.O., BANDYOPADHYAY, S. Physical and mechanical properties of endodontic adsorbent paper points. *Journal of Endodontics*, v.7, n.3, p.123-7, 1981.
2. HABITANTE, S.M., BOMBANA, A.C., ANTONIAZZI, J.H. Estudo comparativo *in vitro* da secagem do canal radicular de dentes humanos, variando-se o diâmetro das cânulas, o tempo de aspiração e associando-se ou não ao uso de cones de papel absorvente. *Revista ABO Nac*, v.3, n.1, p.50-5, fev./mar 1995.
3. HOLLAND, R., NERY, M.J., SOUZA, V. *et al.* Cones de papel em endodontia – velocidade de absorção de alguns tipos de cones de papel empregados em endodontia. *RGO (Porto Alegre)*, v.36, p.406-8, 1988.
4. KUBO, C.H., GOMES, A.P.M., JORGE, A.O.C. Efeitos da autoclavação na velocidade e capacidade absorvente de cones de papel empregados em endodontia. *Revista Odontol Univ São Paulo*, v.13, p.383-9, 1999.
5. LEONARDO, M.R., DA SILVA, L.A.B., ANDRÉ, R.F.G. *et al.* Evaluation of the sterility of absorbent points. *Braz Endod J*, v.2, p.31-2, 1997.

6. LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. *Endodontia: tratamento de canais radiculares*. 3 ed. São Paulo: Panamericana, 1998.
7. ORSTAVICK, D., MÖLLER, B. Bacteriological studies on endodontic paper points. *Acta Odontol Scand*, v.43, p.91-5, August, 1985.
8. RAWLE, L., ADAMS, D., WITHERLEY, J. Antibacterial activity in paper points for endodontic therapy. *Int Endod J*, v.18, p.187-0, 1985.
9. SIQUEIRA JUNIOR, J.F., RÔÇAS, I.N. Bacterial Pathogenesis and Mediators in Apical Periodontitis. *Braz Dent J*, v.18, n.4, p.267-80, 2007.
10. SIQUEIRA JUNIOR, J.F., RÔÇAS, I.N. Update on endodontic microbiology: candidate pathogens and patterns of colonisation. *ENDO (Lond Engl)*, v.2, n.1, p.7-20, 2008a.
11. SIQUEIRA JUNIOR, J.F., RÔÇAS, I.N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *Jendod*, v.34, n.11, p.1291, 2008b.
12. SÓ, M.V.R., BAMMANN, L.L., SILVEIRA, C. *et al.* Análise microbiológica de pontas de papel absorvente. *Rev. Saúde*, v.26, n.1-2, p.36-4, jan./fev. 2000.
13. SUNDQVIST, G., FIGDOR, D., PERSSON, S. *et al.* Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and outcome of conservative re-treatment. *Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v.85, p.86-3, 1998.

14. TARTAROTTI, E., GOLDSCHMIDT, A.I., DE OLIVEIRA, E.P.M. *et al.* Avaliação microbiológica de pontas de papel absorvente e cones de guta-percha. *Odontologia Clin-Cientif*, v.3, n.2, p.103-9, maio-ago; 2004.
15. WILCOX, L., WIEMANN, A.H. Effect of a final alcohol rinse on sealer coverage of obturated root canals. *Journal of Endodontics*, v.21, n.2, p.256-8, may 1995.

## ANEXO IX – Aceite do artigo para publicação

**Aceito** DISSERTAÇÃO X

[Revista\\_ABORJ](#) para mim

[mostrar detalhes](#) 17 mar (8 dias atrás)

Rio de Janeiro, 17 de março de 2010

Ilmos. Srs.

Drs. Bernardo Mattos Almeida – Marcia Christina André Moreira Nacif –  
Patrícia dos Santos Marotta – Thiago de Oliveira Ribeiro – Julio Cezar  
Machado de Oliveira

Prezados Doutores,

Informamos que o artigo intitulado "**Avaliação da contaminação de cones de papel absorvente**" foi considerado **aprovado** para publicação na Revista Brasileira de Odontologia nas edição de nº 1/2010 ou nº 2/2010.

Atenciosamente,

  
**HÉLIO PEREIRA LOPES, CD**  
Diretor da R.B.O.

[Responder](#)

[Encaminhar](#)

**marcia christina andré moreira na** [mostrar detalhes](#) 17 mar (7 dias atrás)

[Responder](#)

----- Mensagem encaminhada -----  
De: **Revista\_ABORJ** <[revista@aborj.org.br](mailto:revista@aborj.org.br)>  
Data: 17 de março de 2010 17:31  
Assunto: Aceito  
Para: [mcnacif@gmail.com](mailto:mcnacif@gmail.com)  
- Mostrar texto das mensagens anteriores -