

ANTIBIÓTICOS POTENCIALIZAM A AÇÃO ANTIMICROBIANA DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS, EM DIFERENTES PERÍODOS, APÓS A PRESA

ANTIBIOTICS INCREASE THE ANTIMICROBIAL ACTION OF ENDODONTIC SEALERS, IN DIFFERENT PERIODS, AFTER SETTING TIME

Recebido em: 15/07/2021

Aceito em: 17/11/2021

GUILHERME FERREIRA DA SILVA¹
CAROLINE DE MATOS LOURENÇO¹
ANA CAROLINA DE ALMEIDA LIMA²
PEDRO HENRIQUE SOUZA CALEFI²
ANA CAROLINA VILLAS BÔAS WECKWERTH³
PAULO HENRIQUE WECKWERTH⁴

1 Centro Universitário Sagrado Coração, Área de Ciências da Saúde, Bauru, São Paulo, Brasil.

2 Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Odontológicos, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

3 Instituto Lauro de Souza Lima, Departamento de Micologia, Bauru, São Paulo, Brasil

4 UNIMED, Bauru, São Paulo, Brasil.

Autor correspondente:

GUILHERME FERREIRA DA SILVA

Email: gferreiras@hotmail.com

ANTIBIÓTICOS POTENCIALIZAM A AÇÃO ANTIMICROBIANA DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS, EM DIFERENTES PERÍODOS, APÓS A PRESA

ANTIBIOTICS INCREASE THE ANTIMICROBIAL ACTION OF ENDODONTIC SEALERS, IN DIFFERENT PERIODS, AFTER SETTING TIME

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana dos cimentos endodônticos MTA Fillapex, Sealapex, Sealer 26 e Endofill puros e acrescidos de amoxicilina e ciprofloxacina frente a duas linhagens ATCC de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 e ATCC 4083). Os testes foram realizados pela técnica de difusão radial dos cimentos aplicados diretamente no ágar e impregnados em discos de papel e pelo teste de contato direto. Para a análise estatística, utilizaram-se os testes de ANOVA e Tukey com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que pela técnica da difusão radial, considerando os cimentos puros, o Sealapex foi o único que apresentou halos de inibição frente às duas linhagens. Já quando da associação de amoxicilina e ciprofloxacina, o MTA Fillapex revelou os melhores halos de inibição para as duas linhagens. Todos os cimentos tiveram a ação potencializada pela adição dos antibióticos ($p < 0,05$). Pela técnica de difusão dos cimentos impregnados em discos de papel, o cimento Sealapex puro fresco demonstrou atividade antimicrobiana em todas as variáveis de tempo. Quando acrescidos dos antibióticos, todos os cimentos tiveram a ação antimicrobiana potencializada pelas drogas, em todas as variáveis de tempo. Esse mesmo resultado foi observado na técnica do contato direto dos cimentos com ambas as linhagens. A atividade antibacteriana, frente ao *E. faecalis*, dos cimentos MTA Fillapex, Endofill, Sealer e Sealapex, acrescidos dos antibióticos amoxicilina e ciprofloxacina, foi potencializada mesmo após um longo período da presa dos cimentos.

Palavras-chave: Endodontia. Antibióticos. *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

*The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of different endodontic cements (MTA Fillapex, Sealapex, Sealer 26, and Endofill), both pure and mixed with 5% of amoxicillin or ciprofloxacin, against two strains of Enterococcus faecalis (ATCC 29212 and ATCC 4083). Bacterial susceptibility testing was conducted by radial diffusion methods and direct contact test after different periods. Data were subjected to ANOVA and Tukey test with a significance level of 5%. Sealapex was the only pure sealer to promote the inhibition of bacterial growth against both strains in different experimental periods. However, all cements present an increase in antibacterial activity by the addition of antibiotics ($p < 0.05$). MTA Fillapex and Sealapex associated with amoxicillin promoted increased values for bacterial growth against ATCC 29212 and ATCC 4083 in comparison to other groups ($p < 0.001$), including extended periods after setting time. The association of antibiotic agents increased the antibacterial effect of the evaluated sealers against the strains of *E. faecalis*.*

Keyword: Endodontics. Antibiotics. *Enterococcus faecalis*.

INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico é determinado clinicamente pela ausência de sinais e sintomas, tais como, dor, edema e fistula. Radiograficamente, a ausência de regressão ou o aumento de uma lesão periapical é um importante indicativo de insucesso do dente tratado endodonticamente (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2008).

Estudos têm demonstrado que a infecção de canais radiculares necrosados e não tratados caracteriza-se pela presença de uma microbiota mista e polimicrobiana, comumente em combinações de quatro a sete espécies, predominantemente anaeróbias estritas, com relativo equilíbrio entre bactérias Gram positivas e Gram negativas. Espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium* são frequentemente cultivadas de canais radiculares infectados (PINHEIRO et al., 2003). Nesta microbiota, destaca-se o *Enterococcus faecalis*, frequentemente, associado ao insucesso dos tratamentos endodônticos (LIMA; FAVA; SIQUEIRA JR, 2001). Isso por que este microrganismo demonstra alta resistência aos procedimentos endodônticos, incluindo ao hidróxido de cálcio (EVANS et al., 2002; WEIGER et al., 1995).

Embora haja significativa redução de microrganismos após o preparo biomecânico, alguns trabalhos demonstraram a necessidade da medicação intracanal entre sessões, com o objetivo de potencializar o controle da infecção do sistema de canais radiculares (NEVES et al., 2020; VERA et al., 2012). Entretanto, mesmo com a utilização do curativo de demora, é impossível a completa eliminação de microrganismos do sistema de canais radiculares (DE KIEVIT; IGLEWSKI, 2000; NAIR, 2006; NAIR et al., 2005).

Desta forma, é importante também que os materiais obturadores possuam atividade antibacteriana para auxiliar na eliminação dos microrganismos que, porventura, permaneçam nas ramificações e túbulos dentinários (SIQUEIRA JR; RÔÇAS, 2008; SIQUEIRA JR et al., 2018). A adição de antibióticos aos cimentos pode aumentar seus efeitos antimicrobianos, o que levaria a uma importante redução da concentração de microrganismos, favorecendo a resposta do hospedeiro (ANDOLFATTO et al., 2017; BAER; MAKI, 2010; HOELSCHER; BAHCALL; MAKI, 2006).

Sabendo-se da importância do *Enterococcus faecalis* nas infecções endodônticas e da sua correlação com o fracasso do tratamento endodôntico, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito antimicrobiano da adição de amoxicilina e ciprofloxacina a diferentes cimentos endodônticos, sobre diferentes linhagens de *Enterococcus faecalis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os cimentos endodônticos avaliados foram: MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil), Sealapex (SybronEndo, Glendora, CA, EUA), Sealer 26 (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) e Endofill (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), puros ou associados à 5% (por peso) de amoxicilina ou ciprofloxacina (DE FREITAS *et al.*, 2017) calcium hydroxide paste with propylene glycol; group 2, calcium hydroxide paste with propylene glycol + 5% diclofenac sodium; group 3, calcium hydroxide paste with propylene glycol + 5% ibuprofen; group 4, calcium hydroxide paste with propylene glycol + 5% ciprofloxacina; and group 6, positive control (without medication). O teste de difusão radial e o método do contato direto foram utilizados para verificar a atividade antibacteriana dos materiais.

Teste da difusão radial

Duas linhagens de *E. faecalis* (ATCC 29212 e ATCC 4083) foram ativadas em ágar (BHI, Brain Heart Infusion, Merck®) à 37° C, por 24 a 48 horas.

Destas placas, 5 colônias foram transferidas para um tubo com 5 mL de BHI que foi incubado overnight à 37°C. Após o crescimento bacteriano, a densidade óptica foi ajustada em solução salina estéril de acordo com os padrões de turbidez de McFarland (1.5 x 10⁸ unidades formadoras de colônia mL⁻¹). Poços (5 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade) foram feitos em placas de Petri (150 x 10 mm), previamente preparadas com BHI de 6 mm de espessura. Após a manipulação dos cimentos, os poços foram preenchidos com os diferentes materiais e as placas foram mantidas por 2 horas à temperatura ambiente. Além disso, com o objetivo de avaliar a atividade antibacteriana dos cimentos após a presa, discos de papel foram impregnados com os cimentos. Feito isso, os discos foram colocados em contato direto na superfície do ágar.

Então, as placas foram incubadas em estufa à 37°C por 24 horas. Os halos de inibição foram mensurados utilizando um paquímetro digital. Os discos impregnados com os cimentos foram mantidos em ambiente úmido e estéril por 24 horas e por 7, 15, e 60 dias para serem testados frente às bactérias nesses períodos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Teste do contato direto

Quarenta tubos de Eppendorf foram utilizados para o teste do contato direto. Após a manipulação, os cimentos foram colocados na base dos tubos; cada tubo recebeu o mesmo volume de cimento (GOMES *et al.*, 2004). Diferentes avaliações foram realizadas após 20 minutos, 24 horas, 7, 15 e 60 dias após a espatulação, sendo mantidos em ambiente úmido à 37°C.

Um volume de 10 microlitros da suspensão bacteriana de cada linhagem, contendo $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônias mL⁻¹, foi, cuidadosamente, inoculado nas superfícies de todos os cimentos. Uma suspensão bacteriana foi inoculada em um tubo não revestido com cimento e serviu como controle. Os tubos foram incubados em câmara úmida à 37°C, por 24 horas. Em seguida, 150 microlitros de caldo BHI foi adicionado em cada tubo revestido, que foi suavemente agitado por 1 minuto com pipeta automática. Após a agitação, 100 microlitros da suspensão de contato foram diluídos em diluições decimais até 10⁻⁴ em caldo BHI. Então, de cada diluição decimal foram transferidos 20 microlitros para a superfície de placas com BHI Agar, semeadas por espalhamento com alça de Drigalski e incubadas à 37°C, por 24 horas. As colônias sobre a superfície das placas foram contadas e o valor do crescimento bacteriano, que foi dado em Unidades Formadoras de Colônias mL⁻¹ (UFC mL⁻¹), foi calculado. Todo o experimento foi realizado em triplicata.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise estatística, por meio da ANOVA e teste de Tukey para as comparações, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Teste da difusão radial

O MTA Fillapex associado à amoxicilina promoveu um aumento no crescimento bacteriano da ATCC 29212 (30 mm) e ATCC 4083 (36 mm) em comparação com os outros grupos ($p < 0.001$), após 24 h, em ágar BHI. Em relação aos cimentos puros, somente o Sealapex exibiram halos de inibição contra ambas as linhagens (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Médias (mm) e desvio padrão dos halos de inibição pelo teste de difusão radial

Grupos	29212			4083		
	Puro	Amoxicilina	Ciprofloxacina	Puro	Amoxicilina	Ciprofloxacina
MTA Filapex	0 ^{Aa}	30.00 ^{Ba}	26.00 ^{Ca}	0 ^{Aa}	36.00 ^{Ba}	27.00 ^{Ca}
Endofill	0 ^{Aa}	27.67 ^{Bb} ±0.5774	21.67 ^{Cb} ±0.5774	0 ^{Aa}	30.00 ^{Bb} ±0.5774	25.33 ^{Cb} ±0.5774
Sealer 26	0 ^{Aa}	25.33 ^{Bc} ±0.5774	25.33 ^{B;a} ±0.5774	0 ^{Aa}	14.33 ^{Bc} ±0.5774	27.00 ^{Ca}
Sealapex	7.00 ^{Ab}	12.67 ^{Bd} ±0.5774	25.67 ^{Ca} ±0.5774	8.00 ^{Ab}	34.67 ^{Bd} ±0.5774	26.33 ^{Ca} ±0.5774

Letras maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística entre os diferentes antibióticos associados aos cimentos testados. Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferenças estatisticamente significantes entre cada cimento.

Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 2. Médias (mm) e desvio padrão dos halos de inibição após diferentes períodos (discos impregnados)

Grupos	29212					4083				
	Fresco	24h	7d	15d	60d	Fresco	24h	7d	15d	60d
MTA Filapex Puro	0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^d	0 ^b	0 ^c				
Amoxicilina	29.67 ^d ±0.5774	30 ^d	30.33 ^a ±0.5774	29.33 ^e ±0.5774	26.33 ^a ±5.508	29.67 ^a ±0.5774	30 ^a	30.33 ^f ±0.5774	30 ^a	29.33 ^a ±0.5774
Ciprofloxacina	25.33 ^a ±0.5774	25 ^a	25.67 ^b ±0.5774	24.33 ^b 2.082	24.67 ^a ±0.5774	26.33 ^e ±0.5774	27 ^e	26 ^c	26 ^d	26.33 ^b ±0.5774
Endofill Puro	0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^d	0 ^b	0 ^c				
Amoxicilina	27.33 ^a ±0.5774	26.67 ^a ±0.5774	35 ^d	40 ^a	36 ^b	30 ^a	29.33 ^a ±0.5774	25 ^a	30 ^a	26 ^b
Ciprofloxacina	21 ^d	20.67 ^d ±0.5774	25 ^b	26 ^b	25 ^a	25 ^b	24.67 ^b ±0.5774	24 ^b	27 ^e	23.33 ^a ±0.5774
Sealer 26 Puro	0 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^d	0 ^b	0 ^c				
Amoxicilina	25.33 ^a ±0.5774	25.33 ^a ±0.5774	30 ^a	32 ^f	26.67 ^a ±0.5774	14.33 ^f ±0.5774	14.67 ^f ±0.5774	24.67 ^{ab} ±0.5774	30 ^a	26 ^b
Ciprofloxacina	25 ^a	25 ^a	17.67 ^d ±0.5774	23 ^b	19.67 0.5774	25 ^b	24.67 ^b ±0.5774	17 ^e	21.67 ^f ±0.5774	19.67 ^f ±0.5774
Sealapex Puro	6.667 ^c ±0.5774	6.667 ^c ±0.5774	6.333 ^d ±0.5774	6.33 ^d ±0.5774	6 ^d	7.67 ^d ±0.5774	7.33 ^d ±0.5774	7 ^e	7 ^c	7 ^d
Amoxicilina	13 ^d	14.33 ^d ±1.115	40 ^e	40 ^a	40 ^b	29.67 ^a ±0.5774	30 ^a	36 ^b	38.33 ^e ±0.5774	33.67 ^e ±0.5774
Ciprofloxacina	24.67 ^a ±0.5774	24.33 ^a ±0.5774	25 ^b	27 ^e	25.67 ^a ±0.5774	24.67 ^b ±0.5774	24.67 ^b ±0.5774	26 ^c	29.33 ^a ±0.5774	29 ^a

Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferenças estatisticamente significantes entre cada cimento em cada período.

Fonte: elaborada pelo autor

As tabelas 3 e 4 exibiram que a adição de antibióticos reduziu significativamente o crescimento bacteriano de ambas as cepas em comparação aos cimentos puros ($p < 0,05$) nos diferentes períodos experimentais. Após 24 horas, MTA Fillapex+amoxicilina apresentou mais atividade antibacteriana do que os outros materiais ($p < 0,05$) contra a ATCC 29212. No mesmo período, os valores do MTA Fillapex, Endofill e Sealapex com amoxicilina foram significativamente maiores em comparação ao Sealer 26+amoxicilina ($p < 0,05$) contra ATCC 4083; não foram observadas diferenças estatísticas significantes entre o MTA Fillapex, Endofill e Sealapex. Após 7 dias, Sealapex+amoxicilina mostrou aumento dos halos de inibição comparados aos outros cimentos frente ao *E. faecalis* ($p < 0,05$). Nos períodos de 15 e 60 dias, Endofill e Sealapex misturados à amoxicilina reduziram significativamente o crescimento bacteriano da ATCC 29212 ($p < 0,05$). No entanto, Sealapex + amoxicilina exibiu aumento nos halos de inibição contra a ATCC 4083 ($p < 0,001$).

Com relação aos cimentos com ciprofloxacina frente a ATCC 29212, valores mais baixos foram vistos com Endofill, após 24 horas, e Sealer 26 aos 7, 15 e 60 dias ($p < 0,05$). A

atividade antibacteriana frente à ATCC 4083 foi significativamente maior no MTA Fillapex e Sealapex em comparação aos demais grupos, exceto após 24 horas. Nesse período, MTA Fillapex reduziu estatisticamente o crescimento do *E. faecalis* ($p < 0,05$) em comparação aos outros cimentos (Tabelas 3).

Tabela 3. Valores (Unidades Formadoras de Colônias por mL-1) dos materiais avaliados contra ATCC 20212 e ATCC 4083 após os diferentes períodos (contato direto).

Grupos	29212					4083				
	Fresco	24h	7d	15d	60d	Fresco	24h	7d	15d	60d
MTA Filapex										
Puro	330.000	330.000	330.000	350.000	370.000	280.000	290.000	300.000	300.000	300.000
Amoxicilina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Endofil										
Puro	320.000	320.000	330.000	160.000	350.000	310.000	310.000	300.000	290.000	320.000
Amoxicilina	0	0	0	35.000	80.000	0	0	0	40.000	110.000
Ciprofloxacina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sealer 26										
Puro	350.000	350.000	370.000	370.000	390.000	330.000	320.000	330.000	300.000	290.000
Amoxicilina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sealapex										
Puro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amoxicilina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Teste do contato direto

Os dados mostram que o MTA Fillapex, Endofil e Sealer 26 puros permitiram crescimento bacteriano das duas linhagens em todos os períodos experimentais. Com relação aos cimentos misturados aos antibióticos, as Unidades Formadoras de Colônia (ATCC 29212 e 4083) foram observadas somente em contato com o Endofil+amoxicilina após 15 e 60 dias. Nenhum dos materiais associados à ciprofloxacina permitiram o crescimento do *E. faecalis*.

DISCUSSÃO

Considerando a resistência do *E. faecalis* ao tratamento endodôntico (EVANS *et al.*, 2002; ROCAS; SIQUEIRAJR; SANTOS, 2004), é importante melhorar a atividade antimicrobiana dos materiais endodônticos. O presente estudo avaliou o efeito da associação da amoxicilina e da ciprofloxacina à atividade antibacteriana de alguns cimentos para obturação do canal radicular contra duas linhagens de *Enterococcus faecalis* (ATCC 4083 e ATCC 29212). Estudos prévios que avaliaram a atividade antibacteriana dos materiais utilizaram diferentes linhagens (DE FREITAS *et al.*, 2017; POGGIO *et al.*, 2011; REZENDE *et al.*, 2008; SALEM-MILANI *et al.*, 2013). No entanto, considerando o objetivo deste estudo

que é analisar cimentos endodônticos associados à antibióticos, é importante utilizar uma linhagem isolada de uma infecção radicular, ATCC 4083, reproduzindo resultados confiáveis para aplicação clínica.

O método da difusão radial é amplamente utilizado em testes antimicrobianos de materiais endodônticos (HOELSCHER; BAHCALL; MAKI, 2006; MIYAGAK *et al.*, 2006; TANOMARU-FILHO *et al.*, 2007), porém algumas limitações são, frequentemente, associadas a esse método (PUMAROLA *et al.*, 1992; TOBIAS, 1988). Assim, neste estudo, o método do contato direto também foi realizado. Essa metodologia permite a avaliação da atividade antimicrobiana dos materiais nos diferentes estágios, incluindo após a presa (GOMES *et al.*, 2004).

O primeiro relato da associação de antibióticos aos materiais para obturação de canais radiculares foi descrito por BUCHHOLZ e ENGELBRECHT em 1970. O sucesso desse procedimento depende do antibiótico utilizado que deve ser escolhido de acordo com a susceptibilidade do microrganismo envolvido (KLEKAMP *et al.*, 1999). Estudos prévios avaliaram a efetividade da adição de amoxicilina, clindamicina e doxiciclina a um cimento endodôntico contra *E. faecalis* e verificaram que a quantidade de 10% promoveu uma melhor atividade antimicrobiana (BAER; MAKI, 2010; HOELSCHER; BAHCALL; MAKI, 2006). No entanto, foi demonstrado que 10% de amoxicilina prejudicou o tempo de presa e o escoamento (ANDOLFATTO *et al.*, 2017). No presente estudo, a proporção utilizada está de acordo com pesquisas prévias (DE FREITAS *et al.*, 2017).

Nossos resultados claramente mostram que o Sealapex foi o único dos cimentos puros que apresentou atividade antimicrobiana contra as linhagens de *E. faecalis*. Esse achado está de acordo com estudos já realizados (BODRUMLU; SEMIZ, 2006; YASUDA; KAMAGUCHI; SAITO, 2008). Além disso, a adição de amoxicilina e ciprofloxacina aumentou o efeito antibacteriano em todos os materiais avaliados. As vantagens de se adicionar amoxicilina aos materiais endodônticos já foi demonstrada (BAER; MAKI, 2010; HOELSCHER; BAHCALL; MAKI, 2006).

No presente trabalho, os cimentos foram avaliados, imediatamente, após a espaturação e após o tempo de presa. Com exceção do Endofill+amoxicilina, após 15 e 60 dias, todos os materiais inibiram o crescimento bacteriano após a presa. Tendo em vista que o MTA Fillapex, Sealer 26 e Endofill puros não exibiram atividade antibacteriana, é possível que a liberação de antibióticos possa ser responsável pelo aumento do efeito. Esses resultados sugerem que a mistura da amoxicilina e da ciprofloxacina proporcionam vantagens clínicas contra os microrganismos resistentes. Embora os dois antibióticos aumentem o efeito frente às duas linhagens de *E. faecalis*, MTA Fillapex e Sealapex apresentaram as melhores atividades antibacterianas contra a ATCC 4083, especialmente quando associadas à amoxicilina.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, a associação dos antibióticos aumentou o efeito antibacteriano dos cimentos avaliados frente ao *E. faecalis*. Portanto, as associações, principalmente, a MTA Fillapex e Sealapex, podem ser consideradas alternativas para a prática clínica. No entanto, outros estudos são necessários para confirmar esses dados e investigar a influência nas propriedades biológicas e em outras propriedades físico-químicas dos materiais obturadores.

REFERÊNCIAS

- ANDOLFATTO, C. *et al.* Cytocompatibility, physical properties, and antibiofilm activity of endodontic sealers with amoxicillin. **Microscopy Research and Technique**, v. 80, n. 9, p. 1036–1048, set. 2017.
- BAER, J.; MAKI, J. S. In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Effect of Three Endodontic Sealers Mixed with Amoxicillin. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 7, p. 1170–1173, jul. 2010.
- BODRUMLU, E.; SEMIZ, M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against *Enterococcus faecalis*. **Journal (Canadian Dental Association)**, v. 72, n. 7, p. 637, set. 2006.
- BUCHHOLZ, H. W.; ENGELBRECHT, H. [Depot effects of various antibiotics mixed with Palacos resins]. **Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin**, v. 41, n. 11, p. 511–5, nov. 1970.
- DE FREITAS, R. P. *et al.* Effect of the Association of Nonsteroidal Anti-inflammatory and Antibiotic Drugs on Antibiofilm Activity and pH of Calcium Hydroxide Pastes. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 1, p. 131–134, jan. 2017.
- DE KIEVIT, T. R.; IGLEWSKI, B. H. Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationships. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 9, p. 4839–4849, set. 2000.
- EVANS, M. *et al.* Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **International Endodontic Journal**, v. 35, n. 3, p. 221–228, mar. 2002.
- GOMES, B. P. F. DE A. *et al.* In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. **Brazilian Dental Journal**, v. 15, n. 1, p. 30–35, 2004.
- HOELSCHER, A.; BAHCALL, J.; MAKI, J. In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Effects of a Root Canal Sealer-Antibiotic Combination Against *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 2, p. 145–147, fev. 2006.
- KLEKAMP, J. *et al.* The use of vancomycin and tobramycin in acrylic bone cement. **The Journal of Arthroplasty**, v. 14, n. 3, p. 339–346, abr. 1999.
- LIMA, K. C.; FAVA, L. R. G.; SIQUEIRA JR, J. F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. **Journal of Endodontics**, v. 27, n. 10, p. 616–619, 2001.
- MIYAGAKI, D. C. *et al.* In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. **Brazilian Oral Research**, v. 20, n. 4, p. 303–306, dez. 2006.
- NAIR, P. N. R. *et al.* Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 99, n. 2, p. 231–252, 2005.
- NAIR, P. N. R. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. **International endodontic journal**, v. 39, n. 4, p. 249–281, 2006.
- NEVES, M. A. S. *et al.* Disinfection and outcome of root canal treatment using single-file or multifile systems and Ca(OH)₂ medication. **Brazilian Dental Journal**, v. 31, n. 5, p. 493–498, set. 2020.

- PINHEIRO, E. T. *et al.* Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. **International endodontic journal**, v. 36, n. 1, p. 1–11, 2003.
- POGGIO, C. *et al.* Antibacterial Effects of Six Endodontic Sealers. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 34, n. 9, p. 908–913, 17 set. 2011.
- PUMAROLA, J. *et al.* Antimicrobial activity of seven root canal sealers. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 74, n. 2, p. 216–220, ago. 1992.
- REZENDE, G. P. DA S. R. DE *et al.* In vitro antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide: a preliminary study. **Brazilian Dental Journal**, v. 19, n. 4, p. 301–305, 2008.
- ROCAS, I.; SIQUEIRAJR, J.; SANTOS, K. Association of *Enterococcus faecalis* With Different Forms of Periradicular Diseases. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 5, p. 315–320, maio 2004.
- SALEM-MILANI, A. *et al.* Antibacterial Effect of Diclofenac Sodium on *Enterococcus faecalis*. **Journal of dentistry (Tehran, Iran)**, v. 10, n. 1, p. 16–22, jan. 2013.
- SIQUEIRA JR, J. F.; RÔÇAS, I. N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **Journal of endodontics**, v. 34, n. 11, p. 1291–1301, 2008.
- SIQUEIRA JUNIOR, J. F. *et al.* Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. **Brazilian oral research**, v. 32, n. suppl 1, p. e65, out. 2018.
- TANOMARU-FILHO, M. *et al.* In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. **Journal of Oral Science**, v. 49, n. 1, p. 41–45, mar. 2007.
- TOBIAS, R. S. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. **International endodontic journal**, v. 21, n. 2, p. 155–60, 25 mar. 1988.
- VERA, J. *et al.* One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. **Journal of endodontics**, v. 38, n. 8, p. 1040–1052, 2012.
- WEIGER, R. *et al.* Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. **Dental Traumatology**, v. 11, n. 1, p. 15–19, 1995.
- YASUDA, Y.; KAMAGUCHI, A.; SAITO, T. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a new resin-based endodontic sealer against endodontic pathogens. **Journal of Oral Science**, v. 50, n. 3, p. 309–313, set. 2008.