

Estudo comparativo da atividade antifúngica de cimentos endodônticos e do agregado de trióxido mineral (MTA)

Comparative study of the antifungal activity of endodontic sealers and mineral trioxide aggregate (MTA)

Francisco M. B. Damasceno

Mestrando em Endodontia pela Universidade Estácio de Sá

Edson Jorge L. Moreira

Professor de Endodontia da Universidade do Grande Rio

Ernani C. Abad

José Freitas Siqueira Jr.

Professores do Curso de Mestrado em Endodontia da Unesa

Resumo

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a atividade antifúngica do ProRoot MTA (agregado de trióxido mineral) e de sete cimentos endodônticos contra as seguintes espécies: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Saccharomyces cerevisiae*. O teste de difusão em ágar foi o método utilizado. Placas de Petri contendo o meio trypticase-soja ágar foram inoculadas com cada espécie de fungo testada ou com saliva humana, representativa de uma cultura microbiana mista. Os resultados permitiram classificar os cimentos testados em ordem decrescente de eficácia antifúngica: Intrafill, AH Plus, Kerr Pulp Canal Sealer, Epiphany, MTA, Sealer 26, Acroseal e Roeko Seal. Nenhum material foi eficaz contra todas as espécies testadas.

Palavras-chave: cimentos endodônticos; atividade antifúngica; teste de difusão em ágar; espécies de *Candida*; *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract

The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the antifungal activity of ProRoot MTA (mineral trioxide aggregate) and seven endodontic sealers against the following species: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* and *Saccharomyces cerevisiae*. The agar diffusion test was the method used. Trypticase-soy agar plates were inoculated with each tested yeast species or human saliva, which served as a representative of a mixed microbial culture. Findings allowed the materials to be ranked in decreasing order of antifungal efficacy as follows: Intrafill, AH Plus, Kerr Pulp Canal Sealer, Epiphany, MTA, Sealer 26, Acroseal and Roeko Seal. No material was effective against all test species.

Keywords: endodontic sealers; antifungal activity; agar diffusion test; *Candida* species; *Saccharomyces cerevisiae*.

Introdução

Embora fungos possam ser detectados em casos de infecção endodôntica primária, estudos têm revelado que estes microrganismos eucariotas são principalmente encontrados em infecções endodônticas secundárias ou persistentes (19, 23). Infecções secundárias são causadas por microrganismos que foram introduzidos no canal após intervenção profissional, ou seja, durante o tratamento, entre as consultas e mesmo após a obturação do canal (16). Infecções persistentes são causadas por microrganismos que de alguma forma resistiram aos procedimentos intracanais de desinfecção (16). Se microrganismos estão presentes no canal no momento da obturação ou se penetram no canal durante ou após o tratamento, há um maior risco de fracasso do tratamento (15). Infecções persistentes ou secundárias também são a principal causa de sintomatologia ou exsudação persistente (10).

A participação de fungos em infecções endodônticas secundárias ou persistentes enfatizam a necessidade da busca de substâncias e materiais para uso endodôntico que sejam eficazes contra estes microrganismos. Estudos relatam que algumas espécies de *Candida* são resistentes ao hidróxido de cálcio, substância comumente empregada como medicamento intracanal (22, 24).

Alguns cimentos endodônticos possuem atividade inibitória principalmente contra bactérias (2, 4, 7, 9, 13, 17, 18). Esta propriedade poderia ser de alguma valia na eliminação de microrganismos residuais, isto é, que permaneceram no canal após o preparo químico-mecânico (e a medicação intracanal, quando usada). Quando forçado a escoar pela compactação empregada durante a obturação, o cimento pode penetrar em ramificações e outras irregularidades anatômicas, aumentando teoricamente as chances de atingir microrganismos localizados nestas áreas, as quais são normalmente inacessíveis aos instrumentos e à substância química auxiliar. Além disso, os efeitos antimicrobianos do cimento poderiam eliminar microrganismos presentes em áreas de microinfiltração coronária de saliva, evitando ou pelo menos retardando a recontaminação do canal. Com base nestas premissas, salienta-se então a importância de um material obturador ser dotado de eficácia antimicrobiana, cujo espectro de atuação deveria idealmente abranger também as espécies de fungos mais encontradas em canais radiculares infectados.

Inúmeros estudos têm testado os efeitos antibacterianos de cimentos endodônticos, mas poucos avaliaram os efeitos antifúngicos. Mesmo assim, tais testes geralmente empregaram a *C. albicans*. Isto se justifica por ser a espécie fúngica mais freqüente em canais infectados, mas outras espécies também podem ser detectadas (21) e, conseqüentemente, estar envolvidas com a etiologia das doenças perirradiculares. Assim, torna-se necessária a avaliação dos efeitos inibitórios sobre outros fungos além da *C. albicans* de cimentos endodônticos novos, dos já estabelecidos no mercado e de materiais com potencial para serem utilizados na obturação.

Apesar de originalmente proposto como material a ser utilizado em retroobturações ou em perfurações radiculares, o agregado de trióxido mineral (MTA) também tem sido testado como material obturador de canais (21). Assim, a comparação de suas propriedades antimicrobianas com a de outros cimentos endodônticos se faz necessária, uma vez que não há estudos na literatura fazendo tal avaliação.

O objetivo deste estudo foi investigar a atividade antifúngica de sete cimentos endodônticos e do MTA contra quatro espécies fúngicas e uma cultura microbiana mista.

Material e Método

Os cimentos endodônticos utilizados no presente estudo foram os seguintes:

1. Roeko Seal Automix (Roeko GmbH, Langenau, Alemanha), cimento à base de silicone (polidimetilsiloxano);
2. AH Plus (Dentsply, Petrópolis, RJ), cimento à base de resina do tipo epóxi-aminas;
3. Sealer 26 (Dentsply), cimento resinoso contendo hidróxido de cálcio;
4. Pro Root MTA (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, EUA);
5. Intrafill (S.S.White Artigos dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ), cimento à base de óxido de zinco e eugenol;
6. Acroseal (Septodont Brasil Ltda, Barueri, SP), cimento resinoso contendo hidróxido de cálcio;
7. Epiphany (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, EUA), cimento compósito à base de resina com polimerização dual;
8. Kerr Pulp Canal Sealer (Kerr Corporation, Orange, EUA), cimento à base de óxido de zinco e eugenol.

Os principais componentes dos cimentos testados são apresentados na Tabela I.

Tabela I. Componentes dos cimentos utilizados de acordo com as informações fornecidas pelos respectivos fabricantes

Cimento	Apresentação	Fórmula
Sealer 26	Pó	hidróxido de cálcio trióxido de bismuto hexametilenotetramina dióxido de titânio éter de bisfenol A diglicidil
	Resina	
AH Plus	Pasta Epóxi	éter de bisfenol A diglicidil tungsteanato de cálcio óxido de zircônio aerosil óxido de ferro amina adamantada N,N- dibenzil-5-oxanonano-diamina-1,9 TCD-diamina tungsteanato de cálcio óxido de zircônio aerosil óleo de silicone
	Pasta Amina	
Acroseal	Pasta Base	ácido glicirrético (enoxolona) metenamina subcarbonato de bismuto colofônia óleo de parafina óleo de terebintina hidróxido de cálcio éter de bisfenol A diglicidil subcarbonato de bismuto pigmento amarelo 10
	Pasta catalisadora	
Intrafill	Pó	óxido de zinco resina hidrogenada colofônia subcarbonato de bismuto sulfato de bário borato de sódio anidro eugenol óleo de amêndoas doce ácido acético glacial
	Líquido	
Epiphany	Resina Dual	mistura de BisGMA BisGMA etoxilado UDMA metacrilato hidrofílico carga de hidróxido de cálcio sulfato de bário sílica
Pro Root MTA	Pó	silicato tricálcico silicato dicálcico aluminato tricálcico ferroaluminato tetracálcico óxido de bismuto sulfato de cálcio diidratado
Roeko Seal	Pasta	polidimetilsiloxano fluido de silicone óleo à base de parafina ácido hexacloroplátinico (catalisador) dióxido de zircônio
Kerr Pulp Canal Sealer	Pó	óxido de zinco prata precipitada subcarbonato de bismuto sulfato de bário óleo de cravo bálsamo do Canadá
	Líquido	

A atividade antifúngica destes cimentos foi avaliada contra quatro espécies: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 64677), *Candida tropicalis* (ATCC 1169) e *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 4126). Estes fungos, inicialmente liofilizados, foram ativados, cultivados e mantidos em caldo de tripticase-soja (TSB) (Difco, Detroit, MI, EUA), sendo que uma cultura de 24 horas foi utilizada como inóculo. Para padronização do inóculo, este foi preparado em meio TSB de acordo com a turbidez de 0,5 da escala de McFarland, a qual, para bactérias, corresponde a, aproximadamente, $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias/ml.

O teste de difusão em ágar foi o método utilizado. Placas de Petri contendo o meio tripticase-soja ágar (TSA) foram inoculadas com 0,1 ml de cultura de cada espécie de fungo testada por meio de swabs estéreis, esfregados por toda a superfície do meio. Saliva humana foi coletada de um membro do laboratório de microbiologia, diluída na concentração de 1 ml de saliva em 4 ml de caldo TSB e usada como parâmetro de comparação para os testes antifúngicos, sendo considerada como uma cultura microbiana mista. Após inoculação da saliva ou das culturas de cada espécie fúngica sobre a superfície do meio TSA, foram confeccionados no mesmo e em cada placa 4 furos com 6 mm de diâmetro e 5 mm de profundidade (ditada pela espessura da camada de ágar) com auxílio de um furador metálico esterilizado. Todo o experimento foi feito em duplicata.

Os cimentos foram manipulados segundo as instruções dos fabricantes e depositados no interior dos furos no meio TSA. Em seqüência, as placas foram incubadas a 37° C por

sete dias, em ambiente de aerobiose. Decorrido este período, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano em volta dos furos contendo os materiais foram mensurados, sendo que, dos valores obtidos, subtraiu-se os 6 mm correspondentes ao diâmetro dos furos.

Para uma visão geral da atividade antifúngica dos materiais testados, os dados obtidos foram agrupados e analisados estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis e pelo teste de comparações múltiplas (PLSD - diferenças mínimas significantes) de Fischer, ambos com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Resultados

As médias dos halos de inibição do crescimento fúngico proporcionados pelos cimentos endodônticos estão expressas na Tabela II. Tendo em vista que cada cimento foi testado em duplicata para cada uma das quatro espécies de fungos e para a cultura mista da saliva humana, o valor de N seria igual a 10. No entanto, devido ao descarte de uma das placas inoculadas com *C. tropicalis* (devido à contaminação), o valor de N considerado para análise estatística foi igual a 9.

O cimento Intrafill apresentou o maior halo médio de inibição, ao passo que o menor halo foi apresentado pelo cimento Acroseal. O cimento Roeko Seal não exibiu atividade antifúngica. O teste de Kruskal-Wallis revelou que existe pelo menos um cimento que apresenta média de diâmetros dos halos de inibição diferente ($P = 0,004$). Dessa forma, foi empregado o teste de comparações múltiplas PLSD de Fischer no nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$) para se evidenciar, na comparação dois a dois, quais são os cimentos que apresentaram médias significativamente diferentes. Os resultados deste teste são apresentados na Tabela III. Considerando-se as comparações múltiplas apresentadas na própria Tabela III, podemos ordenar estatisticamente os cimentos testados em ordem decrescente com relação às diferenças detectadas entre as médias dos diâmetros dos halos de inibição (Tabela IV).

Tabela II. Médias dos halos de inibição de crescimento fúngico produzidos pelos diferentes cimentos endodônticos (em mm)

Cimento	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cultura mista (saliva humana)
1-Roekoseal	0	0	0	0	0
2-AH Plus	0	5	8	11	6
3-Sealer 26	0	0	3	4,5	0
4-MTA	0	0	4	6,5	0
5-Intrafill	0	5,5	10	13	12
6-Acroseal	0	2	2	0	0
7-Epiphaney	0	0	4	7	8,5
8-KPCS	0	4,5	7	9	5

Tabela III. Resultados do teste de comparações múltiplas PSLD de Fischer para as médias dos halos de inibição de crescimentos dos cimentos testados

Comparações	Intrafill	AH Plus	KPCS	Epiphany	Sealer 26	MTA	Acroseal	Roeko Seal
Intrafill	-	NS	NS	SIG	SIG	SIG	SIG	SIG
AH Plus	NS	-	NS	NS	SIG	SIG	SIG	SIG
KPCS	NS	NS	-	NS	SIG	NS	SIG	SIG
Epiphany	SIG	NS	NS	-	NS	NS	SIG	SIG
Sealer26	SIG	SIG	SIG	NS	-	NS	NS	NS
MTA	SIG	SIG	NS	NS	NS	-	NS	NS
Acroseal	SIG	SIG	SIG	SIG	NS	NS	-	NS
Roeko Seal	SIG	SIG	SIG	SIG	NS	NS	NS	-

SIG – diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$)

NS – não houve diferença estatisticamente significativa

Tabela IV. Semelhanças estatísticas entre os cimentos testados

Cimento	Média do halo (mm)	Cimentos semelhantes (sem diferença estatística)
Intrafill	7,89	AH Plus e KPCS
AH Plus	5,77	Intrafill, KPCS e Epiphany
KPCS	4,88	Intrafill, AH Plus, Epiphany e MTA
Epiphany	3,88	AH Plus, KPCS, Sealer 26 e MTA
MTA	1,88	KPCS, Epiphany, Sealer 26, Acroseal e Roeko Seal
Sealer 26	1,33	Epiphany, MTA, Acroseal e Roeko Seal
Acroseal	0,66	Sealer 26, MTA e Roeko Seal
Roeko Seal	0,00	Sealer 26, MTA e Acroseal

Discussão

Uma vez que fungos estão envolvidos em infecções secundárias e persistentes, o espectro de ação antimicrobiana dos cimentos endodônticos deveria incluir estes microrganismos. Este estudo teve como objetivo comparar a eficácia antifúngica de materiais utilizados na obturação do sistema de canais radiculares. Torna-se importante conhecer a atividade antifúngica dos materiais obturadores, em especial a dos cimentos endodônticos, uma vez que estes ficam em contato com as paredes dentinárias ou podem ser forçados a escoar para áreas como istmos e ramificações, todas potencialmente infectadas por colônias de fungos oriundos da infecção primária ou secundária (12), que resistiram aos procedimentos do tratamento endodôntico. Conhecendo o efeito antifúngico dos cimentos endodônticos é possível imaginar que estes possam eliminar microrganismos remanescentes ou pelo menos inibir o seu crescimento. Este estudo avaliou pela primeira vez a ação antifúngica de cimentos endodônticos contra as espécies *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *S. cerevisiae*.

De acordo com SIQUEIRA *et al.* (17), vários compostos podem ser responsáveis pela atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos testados no presente experimento, como por exemplo o óxido de zinco e o eugenol do Intrafill e do Kerr Pulp Canal Sealer, a prata do Kerr Pulp Canal Sealer, a

hexametilenotetramina do Sealer 26 e AH Plus, o hidróxido de cálcio do Sealer 26 e do Acroseal e a resina epóxica do Sealer 26, Acroseal e AH Plus. Os diferentes níveis de eficácia ou mesmo ausência dela para cada material podem ser justificados pelos seguintes fatores: a) pela potência e concentração de cada componente, com efeito, antimicrobiano; b) pelo grau de liberação destes componentes da massa do material antes e depois do endurecimento (o que está relacionado ao envolvimento na reação de endurecimento e à solubilidade); c) quando liberado, da capacidade de difusão no meio de cultura contendo ágar.

Mesmo que o material se difunda pelo ágar, ele não deve reagir com componentes do meio de cultura ou ser neutralizado, além de ter de atingir concentrações suficientes para exercer efeito inibitório. O hidróxido de cálcio, por exemplo, tem a capacidade de se difundir pelo ágar, mas pode ter seus efeitos pH-dependentes neutralizados pela capacidade tamponadora dos meios de cultura (18).

Da análise dos resultados do presente estudo, observa-se que nenhum cimento endodôntico testado apresentou ação inibitória contra a espécie *C. albicans*, o que também foi evidenciado para outros materiais, como AH 26 (3), Sealapex (6, 11), Apexit, Endion e AH Plus (5, 8). Embora tais resultados apontem para uma maior resistência da espécie *C. albicans* contra os materiais testados, há que se considerar que os resultados obtidos em nosso estudo podem estar relacionados ao extenso período de incubação de sete dias. É possível que halos de inibição tivessem sido observados em períodos menores de incubação, uma vez que a liberação de componentes antimicrobianos dos materiais é mais acentuada antes do

endurecimento. Todavia, o fato de que tal ocorrência não foi observada para as outras cepas ou mesmo para a saliva sugere que *C. albicans* possa ser mais resistente contra os materiais testados do que as outras espécies avaliadas. A resistência de cepas de *C. albicans* a medicamentos endodônticos, como o hidróxido de cálcio, tem sido bem documentada (22, 24).

Salientando a eficácia antifúngica, os cimentos Intrafill, AH Plus e Kerr Pulp Canal Sealer apresentaram atividade contra todas as espécies testadas, exceto *C. albicans*. O cimento Intrafill apresentou a maior média dos halos de inibição, muito provavelmente devido ao seu conteúdo de eugenol, cuja atividade antimicrobiana já é reconhecida (18).

Especificamente, os materiais Sealer 26, MTA, Epiphany e Roeko Seal não apresentaram ação inibitória contra *C. glabrata*. Contra a espécie *C. tropicalis*, todos os cimentos apresentaram ação antifúngica, exceto o Roeko Seal. Contra a espécie *S. cerevisiae*, além do Roeko Seal, o Acroseal também não apresentou atividade antifúngica. Considerando a microbiota mista da saliva humana, os cimentos Roeko Seal, Sealer 26, MTA e Acroseal não apresentaram atividade antimicrobiana no período de avaliação de sete dias.

Os efeitos inibitórios do MTA, Acroseal e Sealer 26 foram discretos e apenas observados para duas espécies fúngicas (*C. tropicalis* e *S. cerevisiae* para MTA e Sealer 26 e *C. glabrata* e *C. tropicalis* para o Acroseal). A discreta ação inibitória ou mesmo ausência de efeitos antimicrobianos já foram relatados para o MTA (20). Os resultados do presente estudo para o MTA podem estar relacionados à neutralização do elevado pH do material pela capa-

cidade tampão do meio de cultura. O fato de que outros estudos relataram eficácia antifúngica do MTA sobre *C. albicans* (1, 14) também sugere que os resultados obtidos neste estudo podem estar relacionados a diferenças metodológicas ou ao período de incubação estendido.

O Acroseal e o Sealer 26 são cimentos resinosos que contêm hidróxido de cálcio na formulação e que apresentaram comportamento semelhante no presente estudo. O Acroseal é um cimento ainda recente com poucos estudos avaliando sua eficácia antimicrobiana, o que dificulta qualquer comparação. Já o Sealer 26 tem sido extensivamente pesquisado, apesar de ainda ser um cimento exclusivamente nacional. Estudos têm revelado que o cimento Sealer 26 apresenta acentuada atividade antibacteriana (17, 18). Apesar da presença de hidróxido de cálcio na formulação, a eficácia antibacteriana deste cimento é explicada principalmente pelo fato de que a hexametilenotetramina, elemento ativador da presa da resina e presente no Sealer 26, se decompõe em meio aquoso em formaldeído e amônia. O formaldeído possui excelente atividade antibacteriana. Todavia, no presente estudo, o Sealer 26 apresentou halos de inibição apenas contra *C. tropicalis* e *S. cerevisiae*, mesmo assim de pequenos diâmetros. É possível que seus efeitos antifúngicos sejam menos pronunciados do que os antibacterianos. Entretanto, a ausência de resultados inibitórios sobre a cultura mista (saliva) sugere que o tempo de incubação possa ter exercido papel decisivo nos efeitos antimicrobianos do Sealer 26. Em outras palavras, com o tempo, os efeitos inibitórios do cimento são reduzidos, o que é confirmado pelo fato de

que a liberação de formaldeído do cimento ocorre principalmente durante a reação de endurecimento, sendo praticamente nula após o mesmo.

Conclusão

Os resultados do presente estudo permitem concluir que:

- Os cimentos testados podem ser classificados em ordem decrescente de eficácia antifúngica: Intrafill, AH Plus, Kerr Pulp Canal Sealer, Epiphany, MTA, Sealer 26, Acroseal e Roeko Seal.
- Nenhum cimento apresentou atividade antifúngica contra todas as espécies testadas, sendo que após sete dias de avaliação nenhum material foi eficaz contra *C. albicans*.
- No geral, a atividade antifúngica dos cimentos, quando presente, não foi pronunciada, tornando inteiramente questionável a hipótese de que os cimentos endodônticos podem auxiliar na eliminação de fungos persistentes no canal. 

Recebido em: 14/01/2008

Aprovado em: 07/02/2008

José Freitas Siqueira Júnior

Av. Alfredo Baltazar da Silveira, 580/cobertura - Recreio

Rio de Janeiro/RJ - CEP.: 22790-701

E-mail: siqueira@estacio.br

Referências Bibliográficas

1. AL-HEZAIMI, K. *et al.* Comparison of antifungal activity of white-colored and gray-colored mineral trioxide aggregate (MTA) at similar concentrations against *Candida albicans*. *J. Endod.*, v.32, n.4, p.365-367, 2006.
2. AL-KHATIB, Z. Z. *et al.* The antimicrobial effect of various endodontic sealers. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.70, n.6, p.784-790, 1990.
3. CANALDA, C., PUMAROLA, J. Bacterial growth inhibition produced by root canal sealer cements with a calcium hydroxide base. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.68, n.1, p.99-102, 1989.
4. COBANKARA, F. K. *et al.* In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. *J. Endod.*, v.30, n.1, p.57-60, 2004.
5. DUARTE, M. A. H. *et al.* Ação antimicrobiana de cimentos endodônticos. *JBE*, v.1, p.54-57, 2001.
6. DUARTE, M. A. H. *et al.* Análise da ação antimicrobiana de cimentos e pastas empregadas na prática endodôntica. *Rev Odontol USP*, v.11, p.299-305, 1997.
7. FUSS, Z. *et al.* Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int. Endod. J.*, v.30, n.6, p.397-402, 1997.
8. KAPLAN, A. E. *et al.* Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.15, n.1, p.42-45, 1999.
9. KAYAOGLU, G. *et al.* Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. *Int. Endod. J.*, v.38, n.7, p.483-488, 2005.
10. LOPES, H. P., SIQUEIRA, J. F., JR. *Endodontia: Biologia e técnica*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan/MEDSI, 2004.
11. MIYAGAKI, D. C. *et al.* In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. *Braz Oral Res*, v.20, p.303-306, 2006.
12. NAIR, P. N. *et al.* Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.99, n.2, p.231-252, 2005.
13. ORSTAVIK, D. Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. *Int. Endod. J.*, v.14, n.2, p.125-133, 1981.
14. SIPERT, C. R. *et al.* In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. *Int. Endod. J.*, v.38, n.8, p.539-543, 2005.
15. SIQUEIRA, J. F., JR. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int. Endod. J.*, v.34, n.1, p.1-10, 2001.
16. SIQUEIRA, J. F., JR. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.94, n.3, p.281-293, 2002.
17. SIQUEIRA, J. F., JR *et al.* Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J. Endod.*, v.26, n.5, p.274-277, 2000.
18. SIQUEIRA, J. F., JR, GONÇALVES, R. B. Antibacterial activities of root canal sealers against selected anaerobic bacteria. *J. Endod.*, v.22, p.89-90, 1996.
19. SIQUEIRA, J. F., JR, SEN, B. H. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.97, n.5, p.632-641, 2004.
20. TORABINEJAD, M. *et al.* Antibacterial effects of some root end filling materials. *J. Endod.*, v.21, n.8, p.403-406, 1995.
21. VIZGIRDA, P. J. *et al.* A comparison of laterally condensed gutta-percha, thermoplasticized gutta-percha, and mineral trioxide aggregate as root canal filling materials. *J. Endod.*, v. 30, n. 2, p. 103-106, 2004.
22. WALTIMO, T. M. *et al.* In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int. Endod. J.*, v.32, n.6, p.421-429, 1999.
23. WALTIMO, T. M. *et al.* Yeasts in apical periodontitis. *Crit Rev Oral Biol Med*, v.14, n.2, p.128-137, 2003.
24. WALTIMO, T. M. *et al.* Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int. Endod. J.*, v.32, n.2, p.94-98, 1999.