




Julia de Oliveira NEVES**

 <https://orcid.org/0000-0001-7843-1116>


Franciele de Oliveira DIAS***

 <https://orcid.org/0000-0001-5418-2530>


Laís Stabile PRONI****

 <https://orcid.org/0000-0003-2621-9281>


Maria Letícia Oliveira e FREITAS*****

 <https://orcid.org/0000-0003-2529-5231>

Carolina Simonetti LODI*****

 <https://orcid.org/0000-0002-3926-8392>

Gabriely Cristinni REZENDE*****

 <https://orcid.org/0000-0003-2203-4538>

Recebido em: 17 de março de 2021.

Aprovado em: 05 de maio de 2022.

COMPARAÇÃO DA ADESÃO MICROBIANA EM DIFERENTES MATERIAIS USADOS NO SELAMENTO DE PERFURAÇÕES RADICULARES*

RESUMO

O agregado de trióxido mineral (MTA) é muito utilizado na endodontia por estimular a formação de tecido mineralizado e por apresentar atividade antimicrobiana contra bactérias orais. Porém, apresenta desvantagens como descoloração do elemento dental e dificuldade de manipulação, fatores que estimulam o desenvolvimento de novos materiais como o Bio-C Repair. O Bio-C Repair e MTA são materiais reparadores utilizados em situações de selamentos de perfurações, onde a formação de um biofilme pode levar à perda do elemento dental. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a adesão microbiana do *Enterococcus faecalis* sobre os materiais reparadores. Para isso, oito discos (1x1mm) de cada material (MTA, Bio-C Repair, Cimento de Ionômero de Vidro e Resina) foram preparados, de acordo com o fabricante, e colocados em placas contendo inóculo de *E. faecalis* (ATCC 29212) à 37°C em estufa no período de 7 dias, para induzir a formação de biofilme. Após o tempo experimental (7 dias), os discos foram lavados em solução salina, agitados em vortex, diluídos e inoculados em placa petri contendo meio de *M-Enterococcus* em triplicada para a avaliação da atividade antimicrobiana. As unidades formadoras de colônia foram contadas e submetidas a análise estatisticamente. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística na adesão microbiana entre o MTA e o Bio-C Repair, aceitando a hipótese nula, porém, ambos os materiais apresentaram uma superfície regular, mas não uniforme o que poderia explicar a adesão microbiana. Diante desses resultados, o Bio-C Repair apresenta o mesmo comportamento microbiano que o MTA.

Palavras-chave: Endodontia. Trióxido mineral. Bio-C Repair. *Enterococcus faecalis*.

COMPARISON OF MICROBIAL ADHESION ON DIFFERENT SEALANTS FOR ROOT CANAL PERFORATIONS

ABSTRACT

Mineral trioxide aggregate (MTA) is widely used in endodontics as it stimulates the formation of mineralized tissue and for presenting antimicrobial activity against oral bacteria. However, it has some disadvantages such as dental element discoloration and it is difficult to manipulate, factors that stimulate the development of new fillings such as Bio-C Repair. Bio-C Repair and MTA are repair aids used in perforation sealing situations, where the formation of a biofilm may result in the loss of the dental element. Hence, the aim of this study was to evaluate the microbial adhesion of *Enterococcus faecalis* on repair materials. For this purpose, eight discs (1x1mm) of each filling material (MTA, Bio-C Repair, Glass Ionomer Cement and Resin) were prepared as prescribed by the manufacturer and placed on plates containing inoculum of *E. faecalis* (ATCC 29212) at 37°C in an incubator for 7 days to induce biofilm formation. Subsequent to the experimental time (7 days), the discs were washed in saline, vortex-stirred, diluted, and inoculated into petri dishes containing *M-Enterococcus* culture medium in triplicate for the evaluation of antimicrobial activity. The colony forming units were counted and statistically analyzed. The results revealed that there was no statistical difference in microbial adhesion between MTA and Bio-C Repair, accepting the null hypothesis, however, both filling materials presented a regular but not uniform surface which may explain microbial adhesion. In view of these results, Bio-C Repair presented the same microbial behavior as MTA.

Keywords: Endodontics. Mineral trioxide. Bio-C Repair. *Enterococcus faecalis*.

** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: julianeves99@outlook.com.br

*** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: frandiasdeoliveira01@gmail.com

**** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: laisproni@hotmail.com

***** Graduada em Odontologia do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: marialeticia_pba@hotmail.com

***** Doutora, Docente do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: carol_lodi@yahoo.com.br

***** Doutora, Docente do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Unifunec, e-mail: gaby.cristinni@hotmail.com

* Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP - Pibic/Unifunec



1 INTRODUÇÃO

As perfurações são comunicações envolvendo os canais radiculares e a superfície externa do dente, tendo como fator etiológico processo patológico ou acidentes iatrogênicos (ESTRELA *et al.*, 2018). Os materiais utilizados para o tratamento de perfurações devem apresentar boas características físico-química e biológica, apresentando capacidade de selamento (ESTRELA *et al.*, 2018), atividade antimicrobiana (KORUYUCU *et al.*, 2015) e favorecer a formação de um tecido mineralizado (BACHOO *et al.*, 2013).

O agregado de trióxido mineral (MTA) foi o primeiro biomaterial comercializado e, inicialmente, usado como material de preenchimento radicular nos procedimentos cirúrgicos endodônticos ou no reparo de perfurações (ROBERTS *et al.*, 2008) e, atualmente, no tratamento conservador de polpa, reabsorções radiculares e procedimentos de apicificação (JACOBOVITZ *et al.*, 2008). É composto, principalmente, por finas partículas hidrofílicas de silicato tricálcico de cálcio e fósforo, aluminato tricálcico, óxido tricálcico e óxido de silicato, (KORUYUCU *et al.*, 2015), que conferem ao material características antibacterianas (PARIROKH; TORABINEJAD, 2010), bioatividade e biocompatibilidade, estimulando a formação de tecido duro (MORETTON *et al.*, 2000). Porém, pode provocar descoloração dental, dificuldade de manuseio e apresenta um tempo de presa longo (HA *et al.*, 2017).

Após o surgimento do agregado de trióxido mineral (MTA), novos materiais estão sendo desenvolvidos, como os biocêramicos, com o intuito de facilitar a regeneração do ligamento periodontal sem provocar inflamação (ESTRELA *et al.*, 2018). O Bio-C Repair é um novo cimento hidráulico à base de silicato de cálcio, fosfato de cálcio, hidróxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de tântalo, massas e espessantes (BENETTI *et al.*, 2019), apresentado em pasta, pronto para uso (TOUBES *et al.*, 2021) com boa consistência, fácil aplicação, atua como barreira contra microrganismos, estimula a cicatrização do tecidual, não contribui para a descoloração (GHILOTTI *et al.*, 2020), biocompatibilidade, apresenta capacidade de produzir hidroxiapatita e pode diminuir a fratura radicular (TOUBES *et al.*, 2021).

As comunicações dos canais radiculares também podem ser seladas por outros tipos de materiais, como o cimento de ionômero de vidro, resina composta, dentre outros materiais (LODIENE *et al.*, 2011). O cimento de ionômero de vidro (CIV) também pode ser utilizado nos tratamentos de perfurações e reabsorções, apresentando baixa contração de polimerização, biocompatibilidade, liberação de flúor superfície resistente (MELO *et al.*, 2017) e capacidade de selamento (LODIENE *et al.*, 2011). A resina composta em selamento retrógrada nos casos

de perfurações radiculares acidentais exibiu uma significância na cicatrização de acordo com a sua posição da raiz (LODIENE *et al.*, 2011).

O *Enterococcus faecalis* é um *coccus* anaeróbico facultativo, Gram-positivo, persistente em ambientes alcalinos e com fatores de virulências que facilitam a penetração da estrutura dentária, encontrado nos casos de reinfecções nos tratamentos endodônticos (24% a 77%) e pode sobreviver em pH alcalino (PORTENEIER *et al.*, 2003) e periodontite apical persistente (HAAPASALO *et al.*, 2000).

Entretanto, microrganismos como o *Enterococcus faecalis* podem sobreviver em ambientes alcalinos e resistir ao tratamento endodôntico. Por essa razão, vários materiais estão sendo estudados para dificultar a adesão microbiana, principalmente, em áreas de perfurações; reabsorções, acidentes e complicações que podem estimular a formação de tecido mineralizados, favorecendo os sucessos dos tratamentos endodônticos e assim garantindo a função do elemento dental na cavidade oral. Portanto, o objetivo deste estudo será avaliar *in vitro* a adesão microbiana do *Enterococcus faecalis* em materiais usados para selar comunicação radicular (agregado de trióxido mineral (MTA), Bio C Repair, Cimento de Ionômero de Vidro- CIV e Resina composta).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi comparar a adesão microbiana do *Enterococcus faecalis* na resina composta, cimento de ionômero de vidro, Bio-C repair e MTA.

2 HIPÓTESE NULA

A hipótese nula deste trabalho é que não haverá diferença estatística na adesão microbiana entre os grupos avaliados.

3 METODOLOGIA

3.1 Grupos experimentais e preparo das amostras

Os grupos experimentais foram divididos e manipulados de acordo com a descrição abaixo:

MTA (agregado de trióxido de mineral, Angelus, Indústria de Produtos Odontológicos Ltda. Londrina, PR, Brasil): o pó foi manipulado com água destilada do próprio kit, até que se

conseguisse uma mistura homogênea, inserido em um molde de silicone e deixado em estufa com umidade controlada por 24 h.

Bio C Repair (fabricante Angelus Indústria de Produtos Odontológicos Ltda. Londrina, PR, Brasil): o material foi inserido e adaptado em molde de silicone, com auxílio de uma espátula de resina, e deixado em estufa com umidade controlada por 24h.

Resina composta (Z100) (3M Do Brasil LTDA. Brasil): o material foi inserido em molde de silicone com auxílio de uma espátula de resina, adaptada com tira de poliéster, fotopolimerizado nos dois lados por 40s, os excessos foram removidos com lâmina de bisturi, e deixados em estufa com umidade controlada por 24h.

O Cimento de Ionômero de Vidro (fabricante DENTSCARE LTDA, Joinville, SC-Brasil.): 1g de pó foi homogeneizada com 1ml de líquido (proporção de 1/1 proposta pelo fabricante), em seguida, a mistura foi inserida em molde de silicone com auxílio de uma espátula 24, adaptada com tira de poliéster, e deixada em estufa com umidade controlada por 24h.

3.2 Reativação das cepas bacterianas

As cepas de *Enterococcus faecalis* de referência (ATCC 51299) congeladas foram primeiramente plaqueadas em meio de cultura BHI ágar (Brain Heart Infusion) (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India) e deixadas em estufa a 37°C, por 48 horas para crescer. Após esse período, cinco colônias de *E. faecalis* serão inoculadas em 5 mL de meio de cultura BHI caldo (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India) e mantidas em estufa de CO₂ (5% CO₂) à 37°C overnight para permitir o crescimento bacteriano (KIMYAI *et al.*, 2011).

Após o crescimento *overnight*, a cultura de *E. faecalis* foi ajustada na densidade óptica de 0,06 em espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV/Vis – 1800, Shimadzu Corporation, Nakagyo-Ku, Kyoto, Japão) no comprimento de onda de 550nm, para obtenção de concentrações bacterianas, aproximadamente, de 3,2 x 10⁷ CFU/mL (FARIA-JÚNIOR *et al.*, 2013).

3.2 Formação do biofilme

Para a formação do biofilme, as amostras preparadas dos materiais foram colocadas de forma asséptica em placas de cultura de tecido com 24 poços (TPP Techno Plastic Products AG, Suíça) e 200µL da suspensão com a concentração conhecida de *E. faecalis* (aproximadamente $3,2 \times 10^7$ CFU/mL), preparada previamente, foi colocada sobre as amostras, em seguida, foi acrescentado 1,8 mL de meio de cultura fresco BHI caldo (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India). Para controle de contaminação, um espécime de cada material sem a adição do inóculo foram igualmente processados.

As placas de cultura foram incubadas em estufas a 37°C por 7 dias. O meio de cultura BHI caldo de cada espécime foi completamente trocado a cada 48 horas, sem adição de novos microrganismos (FARIA-JÚNIOR *et al.*, 2013).

3.3 Análise microbiológica

Decorridos 7 dias de formação de biofilme, os espécimes foram lavados em 2ml de solução salina 0,9% e, em seguida, colocados em tubos Falcon contendo 1mL de solução salina, agitados em vórtex por 1 minuto para que os microrganismos a eles aderidos sejam transferidos para a solução salina.

As suspensões foram sequencialmente diluídas (10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6) e inoculadas em triplicata no meio de cultura m-Enterococcus ágar (HIMEDIA, Himedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Maharashtra, India) para determinar a quantidade de *E. faecalis*.

Para a determinação do número de *E. faecalis*, 3 gotas de 10 µL das diluições pré-estabelecidas foram inoculadas pela técnica da semeadura por gotas, na superfície de placas de petri contendo o m-Enterococcus ágar.

Quando as gotas ficaram secas, as placas foram incubadas em estufa de CO₂ (5% CO₂) a 37°C por 48 h para a contagem das bactérias viáveis.

Após descartar possíveis contaminações externas através das amostras de controle, espécimes dos materiais sem inóculos, onde não foi possível observar crescimento bacteriano, as amostras foram desprezadas. Durante o experimento, não houve perdas amostrais por contaminação externa ou manipulação inadequada.

3.4 Análise estatística

Os dados encontrados foram submetidos a análise estatística com nível de significância de 5% ($p < 0,05$), no programa Sigma Plot 12.0. As médias das UFC foram calculadas para cada grupo e submetidas ao teste Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance.

4 RESULTADOS

A tabela 1 mostra a média de UFC/mL (unidade formadora de colônias) dos diferentes grupos. A comparação entre os grupos revelou que não houve diferença estatística entre os materiais avaliados.

Tabela 1 - Média de UFC/mL dos diferentes grupos

MATERIAL TESTADO	UFC/ML
MTA	$6,7 \times 10^7$
Cimento de Ionomêro de Vidro	$2,3 \times 10^7$
Bio C Repair	$3,4 \times 10^7$
Resina Composta	$2,5 \times 10^7$

Fonte: Dos próprios autores.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo comparou a adesão do *E. faecalis* sobre a superfície de quatro materiais usados para selar comunicação entre câmara pulpar e tecido periodontal (Bio-C Repair, MTA, Resina composta e CIV). A hipótese nula testada foi que não haveria diferença entre a adesão microbiana dos materiais testados. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre os grupos avaliados, o que nos fez aceitar a hipótese nula testada.

O *Enterococcus faecalis* é um *coccus* anaeróbico facultativo Gram-positivo frequentemente recuperado dos canais radiculares de dentes com doenças pós-tratamento (PORTENEIER *et al.*, 2003).

O agregado de trióxido mineral (MTA) atualmente utilizado nos procedimentos endodônticos (JACOBOVITZ *et al.*, 2008) é um material bioativo e biocompatível, que estimula a formação do tecido duro (MORETTON *et al.*, 2000). No presente estudo, o MTA apresentou aderência microbiana, nos levando a acreditar que o material não apresenta atividade antimicrobiana efetiva que impediria a aderência dos microrganismos e eliminaria os que

conseguissem se aderir ao material. Esses resultados estão de acordo com os dados encontrados por Estrela *et al.* (2000), porém, discordam de Bhavana *et al.* (2015) que revelaram que o MTA apresenta atividade antimicrobiana contra *E. faecalis*. A diferença nos resultados pode ser explicada pelas metodologias utilizadas, uma vez que Bhavana *et al.* (2015) utilizaram o método de difusão em ágar, enquanto Estrela *et al.* (2000) utilizaram Espectrometria de fluorescência Rx.

O Bio-C repair é um novo material endodôntico apresentando na forma de seringa que facilita a sua inserção na área de comunicação (TOUBES *et al.* 2021) e capacidade de cicatrização tecidual (GHILOTTI *et al.*, 2020). No presente estudo, o Bio- C repair apresentou adesão microbiana semelhante ao MTA. Toubes *et al.* (2021) concluiu que este cimento simplificou a sua técnica e apresentou uma maior capacidade de reparo tecidual, adesão e viabilidade comparado com outro tipo de material e metodologia. Apesar de não haver estudos semelhantes para comparação dos resultados, Ghilotti *et al.* (2020) ao avaliarem a morfologia da superfície das amostras em microscopia eletrônica de varredura, verificou que ambos os materiais exibiram uma superfície regular, porém não uniforme, o que poderia explicar a adesão do microrganismo avaliado no presente estudo.

Apesar das propriedades favoráveis do Cimento de ionômero de vidro, os resultados mostram aderência bacteriana semelhante à da resina composta. O estudo de Vanni *et al.* (2011) mostrou que o cimento de ionômero de vidro modificado por resina não exibiu um bom resultado no selamento na perfuração e não foi capaz de bloquear a comunicação com o meio externo, assim como a resina composta avaliada, estando de acordo com os resultados encontrados por Lodiene *et al.* (2011). Os autores relatam que a resina composta obteve um resultado de vazamento inferior aos demais materiais.

6 CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos, podemos concluir que o novo material Bio-C repair apresenta o mesmo comportamento microbiano que os demais materiais testados, podendo ser utilizado como material reparador.

REFERÊNCIAS

BACHOO, I. K.; SEYMOUR, D.; BRUNTON, P. A biocompatible and bioactive replacement for dentine: is this a reality? The properties and uses of a novel calcium-based cement. **British Dental Journal**, v. 214, n. 2, p. 1-7, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.57>.

BENETTI, F. *et al.* Cytotoxicity, Biocompatibility and Biomineralization of a New Ready-for-Use Bioceramic Repair Material. **Brazilian Dental Journal**, v. 30, n. 4, p. 325-332, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201902457>.

BHAVANA, V. *et al.* Evaluation of antibacterial and antifungal activity of new calcium-based cement (Biodentine) compared to MTA and glass ionomer cement. **Journal of conservative dentistry**, v. 18, n. 1, p. 44-46, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0972-0707.148892>.

ESTRELA, C. *et al.* Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland Cement, Calcium Hydroxide Paste, Sealapex and Dycal. **Brazilian Dental Journal**, v. 11, n. 1, p. 3-9, 2000. Disponível em: [http://143.107.206.201/bdj/bdj11\(1\)/t01111/t01111.html](http://143.107.206.201/bdj/bdj11(1)/t01111/t01111.html).

ESTRELA, C. *et al.* Root perforations: a review of diagnosis, prognosis and materials. **Brazilian Oral Research**, v. 32, suppl. 1, e73, p. 133-146, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0073>.

FARIA-JÚNIOR, N. B. *et al.* Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. **International Endodontic Journal**, v. 46, n. 8, p. 755-762, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/iej.12055>.

GHILOTTI, J. *et al.* Comparative Surface Morphology, Chemical Composition, and Cytocompatibility of Bio-C Repair, Biodentine, and ProRoot MTA on hDPCs. **Materials (Basel)**, v. 13, n. 9, 2189, p. 1-13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma13092189>.

HA, W. N. *et al.* Mineral Trioxide Aggregate-A Review of Properties and Testing Methodologies. **Materials (Basel)**, v. 10, n. 11, 1261, p. 1-18, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma10111261>.

HAAPASALO, H. K. *et al.* Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. **International Endodontic Journal**, v. 33, n. 2, p. 126-131, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2000.00291.x>.

HAN, L.; OKIJI, T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. **International Endodontic Journal**, v. 44, n. 12, p. 1081-1087, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01924.x>.

JACOBOVITZ, M.; LIMA, R. K. de. Treatment of inflammatory internal root resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. **International Endodontic Journal**, v. 41, n. 10, p. 905-912, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2008.01412.x>.

KIMYAI, S. *et al.* Effect of two prophylaxis methods on adherence of Streptococcus mutans to microfilled composite resin and giomer surfaces. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 16, n. 4, e561-e567, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4317/medoral.16.e561>.

KORUYUCU, M. *et al.* An assessment of antibacterial activity of three pulp capping materials on Enterococcus faecalis by a direct contact test: An in vitro study. **European**

Journal of Dentistry, v. 9, n. 2, p. 240-245, 2015. Disponível em:
<https://doi.org/10.4103%2F1305-7456.156837>.

LODIENE, G. *et al.* Sealing ability of mineral trioxide aggregate, glass ionomer cement and composite resin when repairing large furcal perforations. **British Dental Journal**, v. 210, n. 5, p. 1-6, E7, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2011.198>.

MELO, P. A. V. *et al.* Perfuração radicular cervical: relato de um caso clínico. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 23, n. 3, p. 266-272, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.26843/ro_unicid.v23i3.386.

MORETTON T. R. *et al.* Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. **Journal of Biomedical Materials Research**. v. 52, n. 3, p.528-533, 2000. Disponível em:
[https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20001205\)52:3%3C528::AID-JBM11%3E3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20001205)52:3%3C528::AID-JBM11%3E3.0.CO;2-9).

NOWICKA, A. *et al.* Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 6, p.743–747, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.01.005>.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 1, p. 16-27, 2010. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.006>.

PORTENEIER, I.; WALTIMO, T. M.T; HAAPASALO, M. Enterococcus faecalis – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. **Endodontic Topics**. v. 6, n. 1, p. 135-159, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2003.00040.x>.

ROBERTS, H. W. *et al.* Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. **Dental Materials**, v. 24, n. 2, p. 149-164, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2007.04.007>.

TOUBES, K. S.de. *et al.* Bio-C Repair - A New Bioceramic Material for Root Perforation Management: Two Case Reports. **Brazilian Dental Journal**, v. 32, n. 1, p. 104-110, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-6440202103568>.

VANNI, J. R. *et al.* Radiographic evaluation of furcal perforations sealed with different materials in dogs' teeth. **Journal of Applied Oral Science**. v. 19, n. 4, p. 421-425, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1678-77572011005000019>.

WERLANG, A. I. *et al.* Insucesso no tratamento endodôntico: uma revisão de literatura. **Revista Tecnológica**, v. 5, n. 2, p. 31-47, 2016. Disponível em:
<https://uceff.edu.br/revista/index.php/revista/article/view/146>.