
CONTAMINATION OF GUTTA-PERCHA CONES IN CLINICAL USE BY ENDODONTIC SPECIALISTS AND GENERAL PRACTITIONERS¹

CONTAMINACIÓN DE LOS CONOS DE GUTAPERCHA PARA USO CLÍNICO POR PARTE DE ODONTÓLOGOS Y ENDODONCISTAS¹

NACIF MCAM², MARCELIANO-ALVES MFV³, ALVES FRF³

ABSTRACT. Introduction: the present study evaluated the microbial contamination of gutta-percha cones proceeding from packages used clinically by endodontic specialists and general practitioners. **Methods:** two gutta-percha cones were selected from 30 original packages, already in clinical use, in dental clinics. The cones were transferred directly to test tubes containing thioglycolate broth and incubated at 37 °C for 21 days in aerobiosis. All tests were done in triplicate. Fractions proceeding from the tubes that presented turbidity were plated in CLED agar and Gram staining. **Results:** among the gutta-percha cone boxes tested, 9 (30%) showed bacterial contamination in the tested cones, 4 (13%) of those coming from general practitioners and 5 (17%) coming from specialists. There was no significant difference in the contamination of cones in relation to their origin ($p > 0,05$). **Conclusion:** the results of the present study reinforce the need for both clinical dentists and endodontics specialists to implement a strict disinfection protocol before using gutta-percha cones, due to the frequency of contamination.

Key words: bacterial contamination, endodontic infection, gutta-percha, endodontic treatment, root canal

RESUMEN. Introducción: el presente estudio consiste en una evaluación de la contaminación microbiana de los conos de gutapercha procedentes de paquetes usados clínicamente por odontólogos generales y endodoncistas. **Métodos:** se seleccionaron dos conos de gutapercha de cada uno de 30 paquetes que estaban siendo utilizados en clínica dental. Los conos fueron llevados a tubos que contenían caldo de tioglicolato e incubados a 37 °C durante 21 días en aerobiosis. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Los fragmentos procedentes de los tubos que presentaban turbidez fueron tratados con agar CLED y tinción de Gram. **Resultados:** de las cajas de conos de gutapercha evaluadas, 9 (30%) presentaron contaminación bacteriana en los conos evaluados, 4 (13%) de los cuales provenían de odontólogos y 5 (17%) de endodoncistas. No hubo ninguna diferencia significativa en cuanto a la contaminación de los conos con respecto a su origen ($p > 0,05$). **Conclusión:** los resultados del presente estudio resaltan la necesidad de que tanto odontólogos como especialistas en endodoncia implementen un estricto protocolo de desinfección antes de usar los conos de gutapercha, dado que las contaminaciones son frecuentes.

Palabras clave: contaminación bacteriana, infección en endodoncia, gutapercha, endodoncia, conducto radicular

Nacif M, Marceliano-Alves MFV, Alves FRF. Contamination of gutta-percha cones in clinical use by endodontic specialists and clinicians [Contaminación de los conos de gutapercha para uso clínico por parte de odontólogos y endodoncistas]. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2017; 28(2): 327-340. DOI: 10.17533/udea.rfo.v28n2a6 URL: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n2a6>

1 This study was supported by grants from Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).
2 DDS, MSc in Endodontics, Estácio de Sá University, Rio de Janeiro, Brazil
3 DDS, MSc, PhD Post Graduation Program in Endodontics at Estácio de Sá University, Rio de Janeiro, Brazil

1 Este estudio contó con subvención de la Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa Estado Rio de Janeiro (FAPERJ).
2 Odontólogo, MSc en Endodoncia, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brasil
3 Odontólogo, MSc, Programa de posdoctorado en Endodoncia en la Universidade Estácio de Sá, Río de Janeiro, Brasil

INTRODUCTION

The endodontic treatment aims to eliminate microorganisms from the root canal system and focuses on preventing the introduction of new pathogens in it. These microorganisms can originate from primary infection, or they can be introduced during endodontic manipulations. Studies indicate that microorganisms and their products are associated with endodontic treatment failure and perpetuation of periapical diseases,^{1,2} being considered as primary etiological agents of pulpal necrosis and apical periodontitis.^{3,4} Although non-microbial factors can contribute to endodontic failure, scientific evidences report that persistent infections within root canal, or secondary infections are the principal causes of endodontic failure.^{2,5} Attention should therefore be paid to the presence of microorganisms in the dental structure: pulp chamber, root canal system, dentinal tubules, as well as metabolic end products of bacteria with potential antigenic action.

When complete root canal disinfection is achieved by chemical and mechanical preparation, maintaining this disinfection is necessary. In the first instance, introduction of new microorganisms must be avoided during the root canal filling procedures, as their elimination is important. Consequently, it is of utmost importance that instruments or materials introduced within the root canal system do not contribute to the reinfection, or even to the persistence of the endodontic pathology.⁶ Thus, gutta-percha cones must be free from microbial contamination at the moment of use.

The scientific literature indicates that gutta-percha cones taken from manufacturer boxes before the first use don't need to be sterilized. Contamination occurs mainly with continued handling of the boxes, and it may happen by exposure to the physical environment, inappropriate handling by the endodontic professional, or accidental contamination.⁷⁻⁹

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de endodoncia tiene como objetivo eliminar los microorganismos del sistema de conductos radiculares y prevenir la introducción de nuevos patógenos en dicho sistema. Estos microorganismos pueden provenir de una infección primaria, o bien pueden introducirse durante las manipulaciones de la endodoncia. Algunos estudios señalan que los microorganismos y sus productos están relacionados con el fracaso del tratamiento endodóntico y con la permanencia de las enfermedades periapicales,^{1,2} y se consideran como los principales agentes etiológicos de la necrosis pulpar y la periodontitis apical.^{3,4} Aunque los factores no microbianos también pueden contribuir al fracaso endodóntico, las evidencias científicas señalan que las infecciones persistentes dentro del conducto radicular, o las infecciones secundarias, son la principal causa del fracaso endodóntico.^{2,5} Por lo tanto, debe prestarse atención a la presencia de microorganismos en la estructura dental: la cavidad pulpar, el sistema de conductos radiculares y los túbulos dentinarios, así como a los productos metabólicos de bacterias con potencial acción antigénica.

Cuando la total desinfección del conducto radicular se logra por medio de la preparación química y mecánica, es importante mantener esta desinfección. En primer lugar, se debe evitar la introducción de nuevos microorganismos durante los procedimientos endodónticos, ya que su eliminación es importante. Por lo tanto, es de suma importancia que las herramientas o los materiales introducidos dentro del sistema de conductos radiculares no contribuyan a la reinfección, o incluso a la persistencia de la patología endodóntica.⁶ Es por eso que los conos de gutapercha deben estar libres de contaminación microbiana al momento de usarse.

La literatura científica señala que los conos de gutapercha que se sacan de las cajas del fabricante antes del primer uso no deben ser esterilizados. La contaminación ocurre principalmente por el manejo continuo de las cajas, y puede ocurrir por la exposición al medio físico, por un inadecuado manejo por parte del endodoncista o por contaminación accidental.⁷⁻⁹

Endodontic studies recommend that the gutta-percha cones should be decontaminated before being placed within root canals. However, the incidence of contamination is still a reason of disagreement.^{7, 9, 10}

There are plenty of studies evaluating the contamination of gutta-percha cones prior to first usage or the disinfection protocols; however, studies evaluating this occurrence in dental clinics are still lacking. Therefore, the objective of this study was to evaluate the occurrence of contamination of gutta-percha cones stored in manufacturer boxes already manipulated by clinicians and specialists.

METHODS

Gutta-percha cones of medium size from different commercial brands were evaluated. Thirty boxes in clinical use were collected: fifteen from general practitioners offices, and fifteen from endodontic specialist's offices. The boxes were closed and inserted in previously sterilized surgical-grade paper with film (Figure 1A). The packages remained sealed until the tests. The entire experiment was conducted under aseptic conditions.

In the Microbiology Laboratory, new procedures were performed inside a laminar flow cabinet Bio Protector 09 (Veco, Campinas, SP, Brazil), previously decontaminated with ethanol 70% and sterilized using ultraviolet light for 15 min; the operator used surgical gloves and sterile instruments. Two cones were removed from each of the 30 boxes using cotton pliers and transferred immediately to a tube containing 15 ml of fluid thioglycolate medium (fluid thioglycolate medium, Merck, Darmstadt, Germany) (Figure 1B). The gutta-percha boxes presented some divisions, and the cones were removed from the emptier section(s). A new flamed plier was used for each box of cone. For each box, the above cited procedures were performed in triplicate totaling 180 medium cones and 90 tubes/tests (Figure 1C).

Los estudios sobre endodoncia recomiendan que los conos de gutapercha sean descontaminados antes de ser colocados dentro de conductos radiculares. Sin embargo, todavía hay desacuerdos en cuando a la incidencia de la contaminación.^{7, 9, 10}

Existen bastantes estudios que evalúan la contaminación de los conos de gutapercha antes del primer uso o de los protocolos de desinfección; sin embargo, se carece de estudios que evalúen esta situación en las clínicas dentales. Por eso el objetivo de este estudio consistió en evaluar la ocurrencia de la contaminación de los conos de gutapercha almacenados en las cajas manipuladas por odontólogos y especialistas.

MÉTODOS

Se evaluaron conos medianos de gutapercha de diferentes marcas comerciales. Se obtuvieron treinta cajas de uso clínico: quince de consultorios odontológicos y quince de consultorios de endodoncia. Las cajas fueron cerradas y envueltas en papel grado quirúrgico previamente esterilizado y con película (Figura 1A). Las cajas permanecieron selladas hasta el momento de realización de las pruebas. Todo el experimento se llevó a cabo bajo estrictas condiciones asépticas.

En el laboratorio de Microbiología, se llevaron a cabo nuevos procedimientos dentro de una cabina de flujo laminar Bio Protector 09 (Veco, Campinas, SP, Brasil), previamente descontaminado con etanol al 70% y esterilizado con luz ultravioleta durante 15 min; el operario utilizó guantes quirúrgicos e instrumentos esterilizados. Se retiraron dos conos de cada una de las 30 cajas utilizando pinzas de algodón, los cuales fueron llevados inmediatamente a un tubo que contenía 15 ml de medio de cultivo tioglicolato (medio de cultivo tioglicolato, Merck, Darmstadt, Alemania) (Figura 1B). Las cajas de gutapercha presentaban algunas divisiones, y los conos se retiraron de las secciones más vacías. Para cada caja de conos se utilizó una pinza diferente. Los procedimientos mencionados anteriormente se realizaron por triplicado en cada caja, para un total de 180 conos medianos y 90 tubos de ensayo (Figura 1C).

The tubes were incubated for 21 days at 37 °C, in aerobiosis, and analyzed daily for occurrence of turbidity. The tubes that presented turbidity at visual inspection were vortexed for 30 s. The solutions were submitted to sterile saline solution tenfold-diluted up to 10^{-3} . For the selective bacteriological identification at qualitative evaluation, aliquots of 0,1 ml of those solutions were plated in Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient (CLED) agar (Merck, Darmstadt, Germany). The seeding was conducted by staging with sterile suspender platinic. The agar plates were incubated at 37 °C under aerobic conditions and evaluated after 24 h (Figure 1D). An aliquot from each thioglycolate broth that presented turbidity was subjected to Gram staining. A Nikon ECLIPSE E200 microscope was used to evaluate the plates.

Los tubos se incubaron durante 21 días a 37 °C en aerobiosis, y se analizaron diariamente para observar la aparición de turbidez. Los tubos que presentaron turbidez durante la inspección visual fueron llevados al vórtex durante 30 s. Las soluciones fueron expuestas a una solución salina estéril con diluciones de diez veces hasta 10^{-3} . Para la identificación bacteriológica selectiva durante la evaluación cualitativa, se insertaron alícuotas de 0,1 ml de esas soluciones en agar cistina-lactosa deficiente en electrolitos (CLED) (Merck, Darmstadt, Alemania). El cultivo se realizó en platinas de suspensión estériles. Las placas de agar fueron incubadas a 37 °C en condiciones aerobias y evaluadas después de 24 h (Figura 1D). Una alícuota de cada caldo de tioglicolato que presentaba turbidez fue sometida a tinción Gram. Se utilizó un microscopio Nikon ECLIPSE E200 para evaluar las placas.

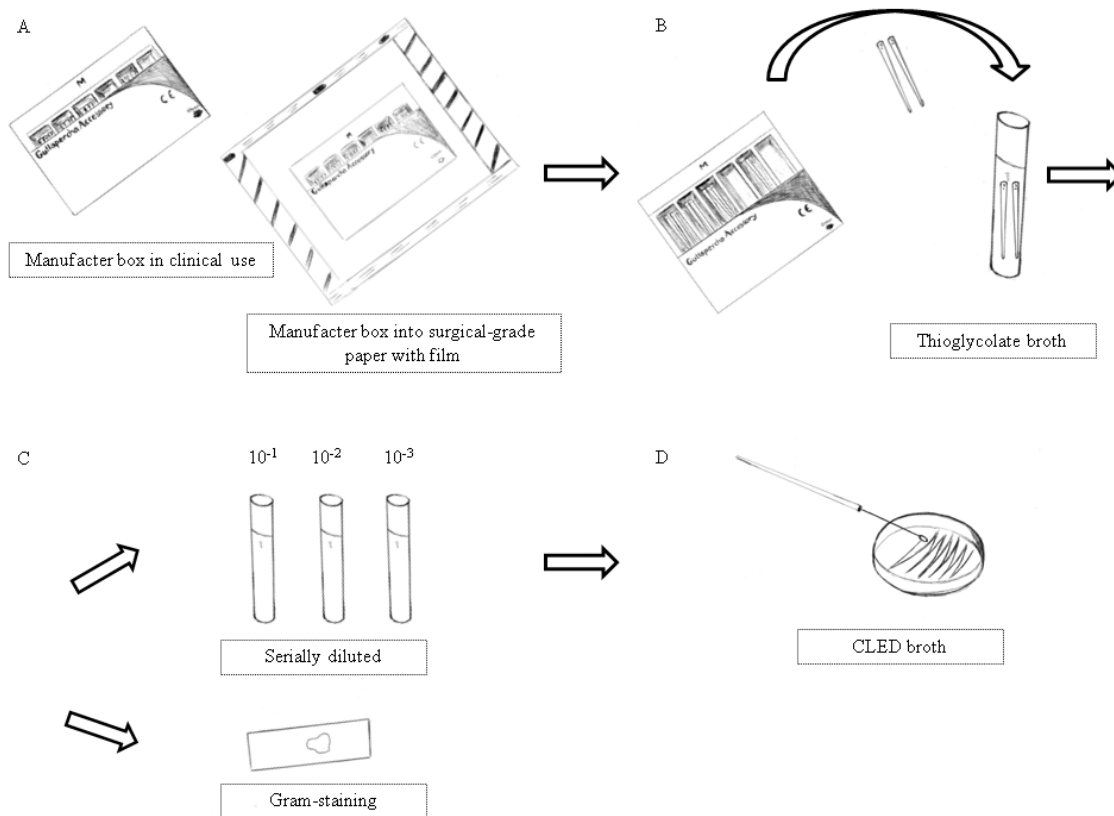


Figure 1. Diagram of materials and methods. Procedures: (A) manufacturer box in clinical use inside surgical-grade paper; (B) gutta-percha cones transferred to thioglycolate broth; (C) Fractions of solutions with turbidity were serially diluted, Gram-stained; (D) and plated in CLED agar.

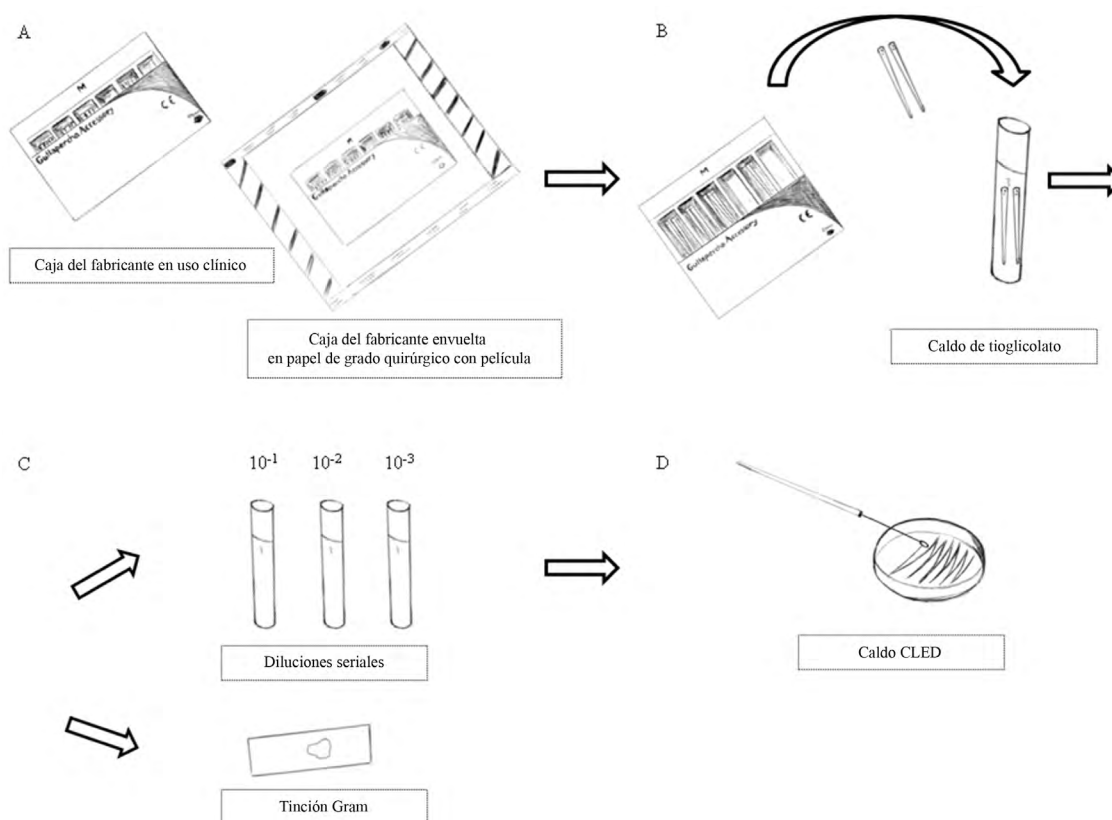


Figura 1. Diagrama de materiales y métodos. Procedimientos: (A) caja del fabricante en uso clínico envuelta en papel de grado quirúrgico; (B) conos de gutapercha transferidos al caldo de tioglicolato; (C) fragmentos de soluciones con turbidez que fueron diluidos en serie, en tinción de Gram, (D) e inmersas en agar CLED.

To separate the control tubes (non-contaminated) that showed turbidity, the test was carried out in duplicate using the medium thioglycolate at the same incubation conditions of temperature and aerobiosis described previously for 48 hours.

A statistical analysis was performed to verify the difference between general practitioners and specialists regarding the presence or absence of contamination. The Chi-square test was used. The significant level was set at 5%.

Controls

One tube containing the culture medium, but no sample, was used as negative control of thioglycolate medium, and one CLED agar plate

Para separar los tubos de control (no contaminados) que presentaban turbidez, la prueba se realizó por duplicado utilizando el medio de tioglicolato en las mismas condiciones de incubación de temperatura y aerobiosis descritas anteriormente, y durante 48 horas.

Se realizó un análisis estadístico para verificar la diferencia entre los odontólogos y los especialistas en cuanto a la presencia o ausencia de contaminación. Se utilizó la prueba Chi-cuadrado. Se estableció un nivel de significancia del 5%.

Controles

Como control negativo del medio de cultivo tioglicolato, se utilizó un tubo que contenía el medio de cultivo, pero sin ninguna muestra, y se usa una placa de agar CLED

with no inoculate cone was used for the same purpose. Two cones removed from a new package (Dentsply, Brazil) and intentionally contaminated with *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) for 24 h in trypticase soy broth were used as positive control. This positive control was made in triplicate. The solution with *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) was plated onto a CLED agar plate as positive control. All tubes and plates were incubated in the same conditions as described above.

RESULTS

From 30 evaluated boxes, the thioglycolate tubes of 14 boxes showed modified optical density (turbidity) at different times: six samples after 48 hours; 5 samples after seven days and 3 samples after 21 days. Negative and positive controls yielded the results expected. From samples that showed turbidity in thioglycolate, 9 boxes (9/30=30%) showed bacterial contamination in Gram staining, 4 samples (4/15=13%) showed bacterial contamination, and 5 samples (5/30) did not. Four boxes (4/15=13%) came from clinicians and five (5/15=17%) from specialist's boxes (16,6%). There was no significant difference in the level of contamination of cones in relation to their origin ($p>0,05$). Gram-negative and Gram-positive rods, as well as Gram-negative cocci and fungi were observed (Table 1). In agar CLED, two plates showed bacterial growth confirming the presence of *Staphylococcus aureus* in two boxes.

sin ningún cono inoculado para el mismo propósito. Como control positivo se utilizaron dos conos de un nuevo paquete (Dentsply, Brasil) que fueron intencionalmente contaminados con *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) durante 24 h en caldo tripticasa soya. Este control positivo se hizo por triplicado. La solución con *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) fue llevada a una placa de agar CLED como control positivo. Todos los tubos y las placas se incubaron en las mismas condiciones descritas anteriormente.

RESULTADOS

De las 30 cajas evaluadas, los tubos de tioglicolato de 14 cajas presentaron densidad óptica modificada (turbidez) en diferentes momentos: 6 muestras después de 48 horas; 5 muestras después de siete días y 3 muestras después de 21 días. Los controles positivos y negativos mostraron los resultados esperados. De las muestras que presentaron turbidez en tioglicolato, 9 cajas (9/30 = 30%) presentaron contaminación bacteriana en la tinción Gram, 4 muestras (4/15 = 13%) presentaron contaminación bacteriana, y 5 muestras (5/30) no la presentaron. Cuatro cajas (4/15 = 13%) provenían de consultorios de odontólogos, y cinco (5/15 = 17%) de especialistas (16,6%). No hubo diferencias significativas en cuanto al nivel de contaminación de los conos con respecto a su origen ($p > 0,05$). Se observaron barras Gram negativas y Gram positivas, así como cocos y hongos Gram negativos (Tabla 1). En el agar CLED, dos placas mostraron crecimiento bacteriano, lo que confirma la presencia de *Staphylococcus aureus* en dos de las cajas.

Table 1. Boxes and the result for turbidity after the different periods and the confirmation of contamination by Gram staining

Groups	Box	48h	7 days	14 days	Gram staining
General practitioners	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	+	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-
	7	-	-	-	-
	8	-	+	-	+
	9	-	-	-	-
	10	+	-	-	+
	11	-	+	-	+
	12	-	-	-	-
	13	-	-	-	-
	14	-	-	+	+
	15	-	-	-	-
Specialists	16	+	-	-	+
	17	-	-	+	+
	18	-	-	+	+
	19	-	+	-	-
	20	+	-	-	+
	21	-	+	-	-
	22	+	-	-	-
	23	+	-	-	-
	24	-	-	-	-
	25	-	-	-	-
	26	-	-	-	-
	27	-	-	-	-
	28	-	+	-	+
	29	-	-	-	-
	30	-	-	-	-
Negative control of the culture medium	NA	-	-	-	-
Positive control of the culture medium	NA	+	+	+	+

NA: not applicable

DISCUSSION

The development or persistence of periapical diseases after endodontic procedures is mainly related to the presence of bacteria inside the

Tabla 1. Cajas y resultado de la turbidez después de los diferentes periodos y de confirmar la contaminación por tinción de Gram

Grupos	Caja	48 h	7 días	14 días	Tinción de Gram
Odontólogos	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	+	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-
	7	-	-	-	-
	8	-	+	-	+
	9	-	-	-	-
	10	+	-	-	+
	11	-	+	-	+
	12	-	-	-	-
	13	-	-	-	-
	14	-	-	+	+
	15	-	-	-	-
Especialistas	16	+	-	-	+
	17	-	-	+	+
	18	-	-	+	+
	19	-	+	-	-
	20	+	-	-	+
	21	-	+	-	-
	22	+	-	-	-
	23	+	-	-	-
	24	-	-	-	-
	25	-	-	-	-
	26	-	-	-	-
	27	-	-	-	-
	28	-	+	-	+
	29	-	-	-	-
	30	-	-	-	-
Control negativo del medio de cultivo	NA	-	-	-	-
Control positivo del medio de cultivo	NA	+	+	+	+

NA: No aplica

DISCUSIÓN

El desarrollo o la persistencia de enfermedades periapicales después de los procedimientos endodónticos se relacionan principalmente con la presencia de bacterias

root canal system.^{2, 5, 11} Efforts must be made to completely remove microorganisms from root canals,⁹⁻¹² and to prevent introduction of others inside the system during the endodontic treatment or afterwards.

Studies of bacterial culture where quantitative data were evaluated to determine the connection between persistent microorganisms and endodontic treatment results have shown that the occurrence of positive culture is a cause for bad prognosis.²⁻⁴ Thus, the professionals must establish effective therapeutic protocols to eliminate microorganisms, with rigorous maintenance of aseptic conditions to prevent secondary infection during treatment.^{5, 10-11, 13}

Since its introduction in endodontics, gutta-percha has been considered the ideal material as root canal sealer.¹⁴ This material presents percentages of some compounds that vary according to the manufacturer,¹⁵⁻¹⁶ however all the different brands include a component that shows antimicrobial activity: zinc oxide.¹⁷

To expand the antibacterial properties of gutta-percha cones, the addition of several components has been proposed in their formulation, including polyvinylpyrrolidone-iodine,^{18, 19} calcium hydroxide (CA(OH)₂),^{19, 20} chlorhexidine (CHX),^{19, 20} and iodoform.²¹ The antibacterial activity of cones, when associated with other substances, such as CHX, Ca(OH)₂ or iodoform, did not provide advantages over the usual cones.¹⁹

Gutta-percha cones, even taken directly from unopened packages, become potentially contaminated after first clinical contact with the environment. The studies by Higgins²¹ et al demonstrated that the risk of contamination on gutta-percha cones immediately upon removal from the package was not a concern. However, Namazikhah et al²² concluded that, if the gutta-percha wasn't intentionally contaminated, there is no need for decontamination prior to root canal filling.

dentro del sistema de conductos radiculares.^{2, 5, 11} Se debe tratar de eliminar completamente los microorganismos de los conductos radiculares,⁹⁻¹² y prevenir la introducción de otros microorganismos en el sistema durante y después del tratamiento endodóntico.

Los estudios de cultivos bacterianos en los cuales se han evaluado los datos cuantitativos para determinar la conexión entre la persistencia de microorganismos y los resultados del tratamiento endodóntico han demostrado que la aparición de cultivos positivos es causa de un mal pronóstico.²⁻⁴ Por lo tanto, los profesionales deben establecer protocolos terapéuticos efectivos para eliminar los microorganismos, manteniendo rigurosas condiciones asépticas para evitar la sobreinfección durante el tratamiento.^{5, 10-11, 13}

Desde su implementación en la endodoncia, la gutapercha ha sido considerada el material ideal para sellar los conductos radiculares.¹⁴ Este material presenta algunos compuestos cuyo porcentaje varía según el fabricante,¹⁵⁻¹⁶ sin embargo, las distintas marcas incluyen un componente que muestra actividad antimicrobiana: el óxido de zinc.¹⁷

Para mejorar las propiedades antibacterianas de los conos de gutapercha, se ha propuesto adicionar varios componentes en su fórmula, como polyvinilpyrrolidone-yodo,^{18, 19} hidróxido de calcio (CA (OH)₂),^{19, 20} clorhexidina (CHX),^{19, 20} y yodoformo.²¹ La actividad antibacteriana de los conos, cuando se asocia con otras sustancias, como la CHX, el CA(OH)₂ o el yodoformo, no presenta ventajas con respecto a los conos comunes.¹⁹

Incluso cuando son tomados directamente de los paquetes cerrados, los conos de gutapercha pueden contaminarse incluso después del primer contacto con el medio ambiente. Los estudios de Higgins et al²¹ demostraron que el riesgo de contaminación de los conos de gutapercha inmediatamente después de ser retirados de su paquete no debía ser motivo de preocupación. Sin embargo, Namazikhah et al²² concluyeron que, si la gutapercha no estaba contaminada intencionalmente, no hay necesidad de descontaminarla antes del sellamiento del canal radicular.

Several studies attributed the microbial colonization difficulty of gutta-percha cones to the antimicrobial property exhibited by the zinc oxide presence in their composition;^{6, 17} furthermore, the endodontic sealers also have antimicrobial activity. Other studies evidenced bacterial growth in samples of cones removed from unopened boxes.^{7, 9} These conclusions should be carefully analyzed. It must be considered that, when the gutta-percha cone is coated with the sealer, some areas may remain uncovered during the insertion into the canal, or even during the overlay of cones by sealer. Justifying the presence of voids in root canal fillings without a sealer has frequently been pointed out by the literature, and this is a big problem.²³⁻²⁵

Da Motta et al.²⁵ claim that the simple environmental exposure of cones is not of critical importance. However, we emphasize that the basic principle of infection control should be respected, and different studies evidenced the microbial contamination during frequent handling of gutta-percha packages.^{7, 9, 18}

The use of endodontic material inappropriately sterilized will induce therapy failure, increasing the risks of introduction of microorganisms within the root canals systems.^{6, 26} Incontestably, the operator shall rigorously maintain biosecurity by preventing the contamination of the sealing instruments and materials. Several studies emphasize the need of decontamination of gutta-percha cones immediately before their use.^{7, 9-10, 27} Some gutta-percha disinfection protocols can be performed, such as cone immersion in 5,25% NaOCl for 1 minute,⁶ use of 2.5% NaOCl or 2% chlorhexidine solutions for the same period of time,^{28, 29} or 1% peracetic acid for 1 minute for rapid disinfection.³⁰

In the present study, we could observe contamination in 30% (14/30) of the boxes of evaluated gutta-percha cones, already in clinical use. The percentage of 13,3% (4/15) corresponded to samples from

Varios estudios atribuyen la colonización microbiana de los conos de gutapercha a la propiedad antimicrobiana debida a la presencia de óxido de zinc en su composición;^{6, 17} por otra parte, los selladores endodónticos también tienen actividad antimicrobiana. Otros estudios han demostrado el crecimiento bacteriano en muestras de conos extraídas de cajas sin abrir.^{7, 9} Estas conclusiones deben ser analizadas cuidadosamente. Debe considerarse que, cuando el cono de gutapercha es recubierto con el sellante, algunas zonas pueden permanecer descubiertas durante la inserción en el canal, o incluso durante el recubrimiento de los conos con el sellante. Justificar la presencia de espacios en los sellantes del canal radicular sin aplicar un sellador ha sido señalado frecuentemente por la literatura, y esto es un problema grave.²³⁻²⁵

Da Motta et al.²⁵ señalan que la sola exposición de los conos al medio ambiente no es de mayor importancia. Sin embargo, nosotros hacemos énfasis en que debe respetarse el principio básico del control de la infección, pues diversos estudios han demostrado la contaminación microbiana durante la frecuente manipulación de los paquetes de gutapercha.^{7, 9, 18}

El uso de material endodóntico inadecuadamente esterilizado puede inducir a fracasos en la terapia, aumentando los riesgos de introducción de microorganismos en los sistemas de conductos radiculares.^{6, 26} Indiscutiblemente, el operador debe mantener una rigurosa bioseguridad, previniendo la contaminación de los instrumentos y materiales de sellado. Diversos estudios hacen énfasis en la necesidad de descontaminar los conos de gutapercha inmediatamente antes de su utilización.^{7, 9-10, 27} Se pueden llevar a cabo algunos protocolos de desinfección de la gutapercha, como sumergir los conos en NaOCl al 5,25% por 1 minuto,⁶ usar NaOCl al 2.5% o soluciones de clorhexidina al 2% por el mismo período de tiempo,^{28, 29} o ácido peracético al 1% durante 1 minuto para una rápida desinfección.³⁰

En el presente estudio se observó contaminación en el 30% (14/30) de las cajas de conos de gutapercha evaluadas que ya estaban siendo utilizadas en la clínica. 13,3% (4/15) de estas corresponden a

clinicians and 16,6% (9/15) corresponding to specimens provided by endodontic specialists. Pang et al.²⁹ found a comparable contamination percentage (19.4%) in a similar study. The authors assessed the contamination and disinfection of 150 gutta-percha cones from endodontic clinics divided into two groups. The first group was evaluated by measuring turbidity after immersion in 5.25% NaOCl, 2% CHX, and Chloraprep (Medi-flex, KS) for 1, 5, 10, or 30 minutes and drying; and the second group was evaluated by the polymerase chain reaction method. Their results indicated that 19.4% of gutta-percha cones from the clinic were contaminated and all the species were *Staphylococcus spp.* Regarding the disinfection protocol, the three chemical disinfectants were effective in the rapid disinfection against *Staphylococcus spp.*, and 1-minute immersion of the gutta-percha cones was adequate.

Contamination was expected to be higher among specialists because their boxes suffer greater use due to the large number of root canal treatments compared to those carried out by clinicians; therefore, the packages are exposed continuously during clinical use and may be subjected to additional contamination. However, this hypothesis was not confirmed, since the statistical analysis showed that the difference was not significant. Probably, a more rigorous training of these professionals makes them more concerned and more aware of biosecurity, balancing the contamination and the frequent handling of gutta-percha packages. Another probable reason is that, due to a greater number of treatments, the cones of boxes are exhausted more rapidly, making them less susceptible to environmental contamination. Another hypothesis is that *general practitioners* carry out less endodontic treatments during their routine, and therefore their boxes can be more susceptible to contamination due to the large environmental exposure. Consequently, the more the exposure the higher the contamination would be.

muestras de odontólogos y 16,6% (9/15) a muestras de endodoncistas. Pang et al.²⁹ hallaron un porcentaje de contaminación parecido (19,4%) en un estudio similar. Los autores evaluaron la contaminación y la desinfección de 150 conos de gutapercha procedentes de clínicas endodónticas divididos en dos grupos. El primer grupo se evaluó mediante la medición de turbidez después de ser inmersos en NaOCl al 5,25%, CHX al 2% y Chloraprep (Medi-flex, KS) por 1, 5, 10 o 30 minutos, después de lo cual fueron secados; y el segundo grupo se evaluó por el método de reacción en cadena de polimerasa. Sus resultados indican que el 19.4% de los conos de gutapercha estaban contaminados con *Staphylococcus spp.* En relación con el protocolo de desinfección, los tres desinfectantes químicos fueron efectivos para la desinfección rápida contra *Staphylococcus spp.*, y la inmersión de los conos de gutapercha durante 1 minuto fue adecuada.

Se esperaba que la contaminación fuera mayor en los conos de los especialistas porque sus cajas son usadas con mayor frecuencia debido a la gran cantidad de tratamientos de conducto radicular que realizan, en comparación con los odontólogos generales; por lo tanto, los paquetes están continuamente expuestos durante el trabajo clínico y pueden ser sujetos a mayor contaminación. Sin embargo, esta hipótesis no fue confirmada, ya que el análisis estadístico demostró que la diferencia no fue significativa. Es posible que la sólida formación de estos profesionales los haga más conscientes con respecto a la bioseguridad, manteniendo un equilibrio entre la contaminación y el manejo frecuente de los paquetes de gutapercha. Otra posible explicación es que, debido a que realizan un mayor número de tratamientos, los conos de las cajas se acaban más rápidamente, lo que los hace menos susceptibles a la contaminación del medio ambiente. Otra hipótesis es que los odontólogos generales realizan menos tratamientos endodónticos rutinariamente, y por lo tanto sus cajas pueden ser más susceptibles a la contaminación debido a la gran exposición ambiental. En consecuencia, a mayor exposición, mayor será la contaminación.

Concerning the detection techniques of microorganisms used in the present study, the main advantage of technical cultivation is the nature of the broad spectrum that it covers, which can identify a wide variety of species in the sample, even though it requires long periods for the assessment and identification of fastidious and demanding bacteria.³¹

The thioglycolate broth was the principal enrichment medium used in the experiment, providing adequate nutrients for growth of microorganisms usually present in low numbers, or slow growth, as well as fastidious and demanding ones. In tubes where the thioglycolate medium showed a change of optical density detected visually, the contamination was confirmed with the Gram method. The rebound indicated that turbidity possibly originated from any released organic dye used by different manufacturers, as reported in the literature.³² This explains the fact that some samples did not show contamination but produced turbidity of the medium. Only two samples showed growth on CLED agar, which is a culture medium for differentiation, isolation, and enumeration of bacteria in urine. This medium was originally developed to support the growth of pathogenic agents and urinary contaminants; also, it was used due to the ease of identification of important pathogens associated with cross-infections, being suitable for isolation of many microorganisms in aerobic growth, although a differentiation can be done according to the fermentation of lactose and some diagnostic tests directly in this medium.

The microbial contamination observed in the present tests finds support among many studies, which also yielded the need for decontamination of gutta-percha immediately preceding the filling of root canals, especially studies investigating the presence of microbial contamination of gutta-percha in unopened packages,^{9, 23, 30, 32} and other studies evaluating this contamination in packages already in clinical use.^{23, 30}

En cuanto a las técnicas de detección de microorganismos utilizadas en el presente estudio, la principal ventaja del cultivo técnico es la naturaleza de la amplia gama que cubre, que puede identificar una gran variedad de especies en la muestra, aunque requiere mucho tiempo para la evaluación e identificación de bacterias insidiosas y exigentes.³¹

El caldo de tioglicolato fue el principal medio de enriquecimiento utilizado en este experimento, pues proporciona los nutrientes adecuados para el crecimiento de los microorganismos que generalmente se presentan en pocas cantidades, con un crecimiento lento, o son insidiosos y exigentes. En aquellos tubos en los que el medio de cultivo tioglicolato mostró un cambio de densidad óptica detectado visualmente, la contaminación fue confirmada con el método de Gram. El resultado indica que la turbidez posiblemente se originó por la liberación de algún tinte orgánico utilizado por diversos fabricantes, como lo ha reportado la literatura.³² Esto explica el hecho de que algunas muestras no presentaron contaminación, sino que produjeron turbidez en el medio. Sólo dos muestras mostraron crecimiento en el agar CLED, que es un medio de cultivo para la diferenciación, aislamiento y enumeración de bacterias en orina. Este medio fue desarrollado originalmente para sustentar el crecimiento de agentes patógenos y contaminantes urinarios; además, fue utilizado debido a la facilidad para identificar patógenos importantes asociados con infecciones cruzadas, siendo conveniente para el aislamiento de muchos microorganismos en crecimiento aeróbico, aunque puede hacerse una diferenciación según la fermentación de la lactosa y algunas pruebas de diagnóstico directamente en este medio.

La contaminación microbiana observada en las pruebas del presente estudio coincide con la de muchos estudios que también concluyen que es necesario descontaminar la gutapercha inmediatamente antes de rellenar los conductos radiculares —especialmente aquellos estudios que investigan la presencia de contaminación microbiana de la gutapercha en paquetes sin abrir—,^{9, 23, 30, 32} y también coincide con otros estudios que evalúan esta contaminación en paquetes que ya están siendo utilizados en la clínica.^{23, 30}

Proper sterilization of gutta-percha cones can be considered difficult or impossible to achieve during daily clinic practice. However, several studies available in the literature demonstrate the laboratorial effectiveness of disinfection cones procedures, such as immersion for 1 minute in 5,25% NaOCl⁶; 2,5% NaOCl or 2% chlorhexidine solutions,^{8, 29} or 1% peracetic acid for rapid disinfection.³⁰

CONCLUSION

Our study demonstrates that bacterial contamination of gutta-percha cones in boxes for clinical use is frequent and was not different between general practice clinicians and endodontic specialists. These results can even emphasize the importance of implementing a strict disinfection protocol before using gutta-percha cones, due to the frequency of contamination.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare not having any conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by grants from Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). The authors are grateful to Marlei G. Silva for her valuable technical support.

CORRESPONDING AUTHOR

Marilia Fagury Vine Marceliano-Alves
Post Graduation Program in Endodontics at Estácio de Sá University, Federal University of Rio de Janeiro
(+55) 213647-3813
mmarceliano@hotmail.com
Rua Rua Siqueira Campos, 59 sala 303
Rio de Janeiro, Brasil (Postal code: 22031-072)

La adecuada esterilización de los conos de gutapercha puede considerarse difícil o imposible de lograr en la práctica clínica diaria. Sin embargo, varios estudios demuestran la eficacia de los procedimientos de desinfección de los conos, como la inmersión durante 1 minuto en NaOCl al 5,25%,⁶ en NaOCl al 2,5%, en soluciones de clorhexidina al 2%,^{8, 29} o en ácido peracético al 1% para una rápida desinfección.³⁰

CONCLUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que la contaminación bacteriana de los conos de gutapercha en cajas para uso clínico es frecuente, y no se presentan diferencias entre los odontólogos generales y los especialistas en endodoncia. Estos resultados pueden incluso acentuar la importancia de aplicar un estricto protocolo de desinfección antes de usar los conos de gutapercha, debido a lo frecuentes que son las contaminaciones.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio recibió subvenciones de la Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa Estado Rio de Janeiro (FAPERJ). Los autores agradecen a Marlei G. Silva por sus valiosas ayudas técnicas.

CORRESPONDENCIA

Marilia Fagury Vine Marceliano-Alves
Post Graduation Program in Endodontics at Estácio de Sá University, Federal University of Rio de Janeiro
(+55) 213647-3813
mmarceliano@hotmail.com
Rua Rua Siqueira Campos, 59 sala 303
Rio de Janeiro, Brasil (Postal code: 22031-072)

REFERENCES / REFERENCIAS

1. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85(1): 86-93.
2. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20: 340-349.
3. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Dissertation. Umea, Sweden: University of Umea; 1976.
4. Siqueira JF Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001; 34(1): 1-10.
5. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FG, Gomes BP. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(6): 411-418. DOI: 10.1111/j.1399-302X.2007.00379.x URL: <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2007.00379.x>
6. Gomes BP, Vianna ME, Matsumoto CU, Rossi-Vde P, Zaia AA, Ferraz CC et al. Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100(4): 512-517. DOI: 10.1016/j.tripleo.2004.10.002 URL: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.10.002>
7. Seabra-Pereira OL, Siqueira JF Jr. Contamination of gutta-percha an Resilon cones taken directly from the manufacturer. *Clin Oral Investig* 2010; 14(3): 327-330. DOI: 10.1007/s00784-009-0295-z URL: <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0295-z>
8. Kayaoglu G, Gürel M, Omürlü H, Bek ZG, Sadik B. Examination of gutta-percha cones for microbial contamination during chemical use. *J Appl Oral Sci* 2009; 17(3): 244-247.
9. Siqueira JF Jr, Silva CH, Cerqueira MC, Lopes HP, de Uzeda M. Effectiveness of four chemical solutions in eliminating *Bacillus subtilis* spores on gutta-percha cones. *Endod Dent Traumatol* 1998; 14(3): 124-126.
10. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Update on endodontic microbiology: candidate pathogens and patterns of colonisation. *ENDO* 2008; 2(1): 7-20.
11. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008; 34(11): 1291-1301. DOI: 10.1016/j.joen.2008.07.028 URL: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.07.028>
12. Torabinejad M, Kutsenko D, Machnick TK, Ismail A, Newton CW. Levels of evidence for the outcome of nonsurgical endodontic treatment. *J Endod* 2005; 31(9): 637-646.
13. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. *J Endod* 2006; 32(4): 281-290. DOI: 10.1016/j.joen.2006.02.007 URL: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2006.02.007>
14. Friedman CM, Sandrik JL, Heuer MA, Rapp GW. Composition and mechanical properties of gutta-percha endodontic points. *J Dent Res* 1975; 54(5): 921-925. DOI: 10.1177/00220345750540052901 URL: <https://doi.org/10.1177/00220345750540052901>
15. Friedman CE, Sandrik JL, Heuer MA, Rapp GW. Composition and physical properties of gutta-percha endodontic filling materials. *J Endod* 1977; 3(8): 304-308. DOI: 10.1016/S0099-2399(77)80035-6 URL: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(77\)80035-6](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(77)80035-6)
16. Moorer WR, Genet JM. Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982; 53(5): 503-507.
17. Montgomery S. Chemical decontamination of gutta-percha cones with polyvinylpyrrolidone-iodine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 31(2): 258-266.
18. Podbielski A, Boeckh C, Haller B. 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* 2000; 26(7): 398-403. DOI: 10.1097/00004770-200007000-00005 URL: <https://doi.org/10.1097/00004770-200007000-00005>
19. Lui JN, Sae-Lim V, Song KP, Chen NN. In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta-percha points on *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004; 37(2): 105-113.
20. Chogle S, Mickel AK, Huffaker SK, Neibaur B. An in vitro assessment of iodoform gutta-percha. *J Endod* 2005; 31(11): 814-816.

21. Higgins JR, Newton CW, Palenik CJ. The use of paraformaldehyde powder for the sterile storage of gutta-percha cones. *J Endod* 1986; 12(6): 242-248. DOI: 10.1016/S0099-2399(86)80255-2 URL: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(86\)80255-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(86)80255-2)
22. Namazikhah MS, Sullivan DM, Trnavsky GL. Gutta-percha: a look at the need for sterilization. *J Calif Dent Assoc* 2000; 28(6): 427-432.
23. Anbu R, Nandini S, Velmurugan N. Volumetric analysis of root fillings using spiral computed tomography: an in vitro study. *Int Endod J* 2010; 43(1): 64-68. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2009.01638.x URL: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2009.01638.x>
24. James BL, Brown CE, Legan JJ, More BK, Bail MM. An in vitro evaluation of the contents of root canals. *J Endod* 2007; 33(11): 1359-1363. DOI: 10.1016/j.joen.2007.07.021 URL: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.07.021>
25. da-Motta PG, de-Figueiredo CB, Maltos SM, Nicoli JR, Ribeiro-Sobrinho AP, Maltos KL et al. Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *Int Endod J* 2001; 34(6): 435-439.
26. Attin T, Zirkel C, Pelz K. Antibacterial properties of electron beam sterilized gutta-percha cones. *J Endod* 2001; 27(3): 172-174. DOI: 10.1097/00004770-200103000-00006 URL: <https://doi.org/10.1097/00004770-200103000-00006>
27. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part I- Current molecular technologies for microbial diagnosis. *J Endod* 2005; 31(6): 411-423.
28. Nabeshima CK, Machado ME, Britto ML, Pallotta RC. Effectiveness of different chemical agents for disinfection of gutta-percha cones. *Aust Endod J* 2011; 37(3): 118-121. DOI: 10.1111/j.1747-4477.2010.00256.x URL: <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2010.00256.x>
29. Pang NS, Jung IY, Bae KS, Baek SH, Lee WC, Kum KY. Effects of short-term chemical disinfection of gutta-percha cones: identification of affected microbes and alterations in surface texture and physical properties. *J Endod* 2007; 33(5): 594-608. DOI: 10.1016/j.joen.2007.01.019 URL: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.01.019>
30. Subha N, Prabhakar V, Koshy M, Abinaya K, Prabhu M, Thangavelu L. Efficacy of peracetic acid in rapid disinfection of Resilon and gutta-percha cones compared with sodium hypochlorite, chlorhexidine, and povidone-iodine. *J Endod* 2013; 39(10): 1261-1264. DOI: 10.1016/j.joen.2013.06.022. URL: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.06.022>.
31. Marciano J, Michalesco PM, Abadie MJ. Stereochemical structure characterization of dental gutta-percha. *J Endod* 1993; 19(1): 31-34.
32. Marciano J, Michalesco PM. Dental gutta-percha: chemical composition, X-ray identification, enthalpic studies, and clinical implications. *J Endod* 1989; 15(4): 149-153. DOI: 10.1016/S0099-2399(89)80251-1 URL: [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(89\)80251-1](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(89)80251-1)