

ARTÍCULO ORIGINAL

DOI: http://dx.doi.org/10.14482/sun.37.1.616.34

Evaluación de la actividad antimicrobiana del MTA fillapex® frente al *enterococcus faecalis*

Evaluation of the Antimicrobial Activity of MTA Fillapex® Against Enterococcus Faecalis

Stella Pupo Marrugo¹, Javier Alvear Perez², Daniel Del Rio Rocha³

- ¹ Institución de adscripción: Universidad de Cartagena. Dirección postal: Cartagena, Colombia, Barrio Manga Calle 25#20-47. Teléfono: +57 3174350510. spupom@unicartagena.edu.co. ORCID ID: https://orcid.org/0000-0001-5897-0542
- ² Institución de adscripción: Universidad de Cartagena. Dirección postal: Cartagena, Colombia, Barrio Pie de la Popa Edif La Ermita. Teléfono: +57 3002718867. jalvearp@unicartagena.edu.co. ORCID ID: https://orcid.org/0000-0001-9748-7238
- ³ Institución de adscripción: Estudiante Universidad de Cartagena. Dirección postal: Cartagena, Colombia, Zaragocilla Campus de la Salud. Teléfono: +57 3123844306. ddelrior@unicartagena.edu.co. ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-0427-2498

RESUMEN

Introducción: El objetivo final de la terapia endodóntica es la eliminación de microorganismos en el interior del conducto radicular. Algunas bacterias pueden sobrevivir a esta terapia; entre las comúnmente detectadas en fallas endodónticas se encuentra el *E. faecalis*. Los cementos biocerámicos se presentan como una alternativa eficiente en la terapia de endodoncia debido a su capacidad de sellado y sus propiedades antimicrobianas.

Métodos: Estudio experimental *in vitro*, en el que se sembró la bacteria (*E. faecalis*) en una caja de Petri, se tomaron de 5 a 10 cepas y se disolvieron en caldo de Mueller Hinton, para luego depositar el inóculo más el cemento en diferentes concentraciones en una placa de 96 pozos y medir el nivel de absorbancia de cada muestra en un espectrofotómetro. Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas no paramétricas de Mann-Whitney y Kruskal Wallis.

Resultados: Al comparar de dos en dos los datos obtenidos no se obtuvieron datos estadísticamente significativos, pero al comparar las diferentes concentraciones de ambos cementos se obtuvo que el cemento de Grossman al 2 % tiene mayor efecto antimicrobiano.

Conclusión: No hay diferencia significativa en la actividad antimicrobiana del MTA Fillapex® y el cemento de Grossman contra el *E. faecalis*, pero al comparar el cemento de Grossman al 2 %, este tiene mayor efecto antimicrobiano en comparación con el mismo cemento a diversas concentraciones.

Palabras claves: MTA Fillapex®, espectrofotómetro, Enterococcus faecalis, actividad antimicrobiana (DeCS).

ABSTRACT

Introduction: the ultimate aim of the root canal therapy is elimination or reduction of microorganisms in the root canal system. Although some bacteria can survive this therapy, among bacteria commonly detected in endodontic failure is *E. faecalis*. The bioceramic sealers are presented as an efficient alternative due its sealing capacity and antimicrobial properties.

Methods: the research was experimental in vitro, where the bacteria (*E. faecalis*) was planted in a box perti, were taken from 5 to 10 strains and dissolved in broth Mueller Hinton then deposit inoculum more sealer at different concentrations in a 96 well plate and measuring the level of absorbance of each sample in a spectrophotometer. For statistical analysis, non-parametric Mann-Whitney and Kruskal Wallis were used.



Barranquilla (Col.)

Results: when comparing two at the data no statistically significant data were obtained, but when comparing different concentrations of both sealers was obtained Grossman sealers 2% has greater antimicrobial effect.

Conclusion: There is not significant difference in the antimicrobial activity of MTA Fillapex and Grossman cement against E. faecalis, but when comparing Grossman cement to 2%, this has a higher antimicrobial effect compared to the same cement at various concentrations.

Keywords: spectrophotometry, MTA-Fillapex®, *Enterococcus Faecalis*, antimicobial activity. (MeSH).

INTRODUCCIÓN

La finalidad de la terapia endodóntica consiste en eliminar los microorganismos presentes en el interior del sistema de conductos radiculares durante la preparación, y de esta manera disminuir el riesgo de posibles fallas endodónticas (1-3), las cuales generan muchas limitaciones en el paciente. Las lesiones periapicales producto de las fallas endodónticas contienen gran cantidad de formas bacterianas, entre las cuales se encuentran bacilos anaerobios Gram negativos, cocos anaerobios Gram positivos y anaerobios facultativos(4).

Se destaca el *E. faecalis*, el cual es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado (5), perteneciente a la flora bacteriana del tracto gastrointestinal, aunque puede sobrevivir en otras zonas del cuerpo (6). Este microorganismo tiene la capacidad de crecer en ambientes con nutrientes limitados, temperaturas extremas y zonas con altas concentraciones de sales, lo cual se relaciona con su capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes sometidos a tratamiento endodóntico, en los cuales los nutrientes son limitados (2, 3, 5, 7-9).

Para eliminar la infección del sistema de conductos radiculares es necesario limpiarlos, conformarlos y sellar tridimensionalmente, lo cual disminuye la posibilidad de microfiltración bacteriana (8-10). El cemento sellador es importante en la terapia endodóntica, debido a que logra llegar a esos espacios donde no es posible llegar con la irrigación y la gutapercha; además su fórmula posee componentes con propiedades antimicrobianas, los cuales le permiten actuar contra las bacterias que persisten luego de la preparación químico - mecánica del sistema de conductos radiculares (4,11 – 12 4, 11-13).



Existen diversos tipos de cementos obturadores de canales radiculares, entre los cuales se encuentran los cementos a base de óxido de zinc - eugenol, como el cemento de Grossman, el cual tiene propiedades antibacterianas debido a la presencia de zinc; además de estos existen los cementos a base de hidróxido de calcio, como el Apexit, los cuales son bien conocidos por sus propiedades alcalinas, a base de ionómeros de vidrio (Ketac-endo), a base de resinas (AH26), selladores con base de silicona (RoekoSeal) y selladores que contienen materiales farmacéuticos (Endomethasone) (2, 3, 8, 11).

Actualmente los selladores basados en resina epoxi son ampliamente utilizados por sus propiedades mecánicas y compatibilidad con los materiales de restauración. Así mismo, por sus características favorables, como la adhesión a la estructura dentaria, largo tiempo de trabajo, facilidad de manipulación y buen sellado (10, 13).

El cemento MTA Fillapex® es un sellador de resina a base de MTA en su composición, además de salicilato de resina, resinas naturales y diluidas, resina de nanopartículas, trióxido de bismuto, nanopartículas de silicato y pigmentos. Tiene baja solubilidad y es de fácil manejo; entre sus propiedades se destaca su PH alcalino y su efecto antimicrobiano, además es bioactivo y similar al MTA por su capacidad para integrarse al tejido dentinario con el que entra en contacto (3, 9, 10, 13 14). Los resultados relacionados con su respuesta biológica son contradictorios. Varias investigaciones revelaron que este material mostró alta citotoxicidad y genotoxicidad, incluso después de 90 días; otros estudios indican que la citotoxicidad de MTA Fillapex disminuye con el tiempo (15 17).

Es importante determinar la efectividad antimicrobiana de los cementos obturadores de canales, ya que el éxito clínico y radiográfico del tratamiento se relaciona con la ausencia de microorganismos.

El propósito de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del cemento sellador de canales MTA Fillapex® frente al *E. faecalis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio experimental *in vitro*. La muestra estuvo constituida por cepa de referencia de *E. faecalis* (ATCC 29212), la cual fue sembrada en una caja de Petri que contenía agar rico en nutrientes mediante la técnica de siembra por agotamiento y llevado a la incubadora durante 24 horas a 37°C para que creciera. Luego se tomaron de 5 a 10 muestras de colonias de las bacterias sembradas y con ayuda de un aza se inocularon en un tubo falcón, el cual contenían 100 μL de caldo Mueller



Hinton; se rotuló y se procedió a vibrar en un vórtex el falcón con el contenido del caldo inoculado; se depositaron las muestras en una placa de 96 pozos por triplicado para su posterior lectura en un lector MultiScan Ex (Thermo Sceintific) a una escala 0,08 - 0,1 ABS y una longitud de onda de 620 nm (macfarlán 0,5), para observar la curva de crecimiento del *E. faecalis*, tomándose lecturas cada hora; la primera se llamó hora cero, hasta alcanzar el máximo crecimiento de la bacteria y su posterior estado estacionario y deceso (gráfico 1)

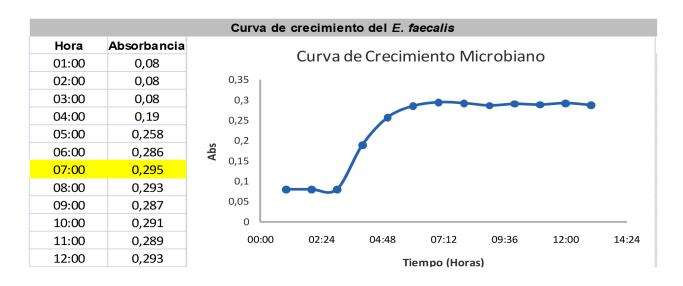


Gráfico 1. Curva de Crecimiento E. faecalis

Para el desarrollo del ensayo de sensibilidad antimicrobiana por el método de microdilución en caldo fue necesaria la preparación de controles de esterilidad, como control de agua, control de medio o caldo, control positivo para la inhibición del crecimiento (control de Gentamicína) y el inóculo bacteriano; todos estos fueron montados por triplicado en un volumen de 100 μ L por pozo, con excepción del control de Gentamicína, el cual estaba conformado por 50 μ L del antibiótico y 50 μ L del inóculo bacteriano.

Luego se realizó la preparación de los cementos (Grossman y MTA Fillapex® (Eufar y Angelus Dental) según las indicaciones de los fabricantes, y de esta manera se realizó microdilución de los cementos con DMSO(dimetil sulfóxido) al 1 % en diferentes concentraciones. Se tomaron 5mg de cada cemento y se depositaron en un tubo eppendorf de 1,5 ml, seguidamente se adicionó 1ml

de DMSO con ayuda de una pipeta, se mezcló y se vibró en el Vortex, y así sucesivamente para la elaboración de cinco diluciones:

- 1. La dilución 1 contenía 10 mg de cemento y 1 ml de DMSO. 10000 μg/ml (DMSO 100 %).
- 2. La dilución 2 contenía 100 μ l de stock 1 y 900 μ l de agua destilada. 1000 μ g/ml (DMSO 10 %).
- 3. La dilución 3 contenía 50 μl de stock 2 y 950 μl de agua destilada. 50 μg/ml (DMSO 0,5 %).
- 4. La dilución 4 contenía 75 μl de stock 2 y 925 μl de agua destilada. 75 μg/ml (DMSO 0,75 %).
- 5. La dilución 5 contenía 130 μ l de stock 2 y 870 μ l de agua destilada. 130 μ g/ml (DMSO 1,3 %). Se rotularon los tubos eppendorf con las concentraciones y contenidos así:

C1 (GROSS 0,5 μ l), C2 (GROSS 1 μ l), C3 (GROSS 2 μ l), C4 (GROSS 4 μ l), C5 (GROSS 8 μ l), C6 (GROSS 16 μ l), C7 (GROSS 32 μ l), C8 (GROSS 64 μ l), C9 (GROSS 128 μ l), C10 (MTA 0,5 μ l), C11 (MTA 1 μ l), C12 (MTA 2 μ l), C13 (MTA 4 μ l), C14 (MTA 8 μ l), C15 (MTA 16 μ l), C16 (MTA 32 μ l), C17 (MTA 64 μ l), C18 (MTA 128 μ l).

Luego se depositaron las muestras en la placa de 96 pozos por sextuplicado, con ayuda de una micro pipeta. Posteriormente se llevó la placa hasta el espectrofotómetro para medir la absorbancia a las 7 horas y determinar así la capacidad antimicrobiana de los cementos.

Los datos arrojados en la lectura se organizaron y se depuraron en el *software* Microsoft Excel 2013 para Windows; analizados e interpretados en el programa estadístico SPSS v.23 IBM. Luego se aplicó el test Shapiro Wilks, en el cual todas las muestras rechazaron el supuesto de normalidad; igualmente, el test de Levene rechazó la igualdad de varianzas; en consecuencia los datos se analizaron por intermedio de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para dos muestras independientes y la prueba de Kruskal Wallis para muestras independientes con un nivel de confianza de p < 0,05.

RESULTADOS

El análisis comparativo de los datos mostró que al comparar de dos en dos los cementos Grossman y MTA Fillapex[®] en las diferentes concentraciones por intermedio de la prueba de Mann-Whitney, ninguna de estas comparaciones resultó estadísticamente significativa (tabla 1).



Tabla 1. P valor en comparación de los dos cementos prueba de Mann-Whitney

Cemento de Grossman – MTA Fillapex®							
% de concentración	P valor						
0,5	0,746						
1	0,629						
2	0,423						
4	0,334						
8	0,054						
16	0,737						
32	0,628						
64	0,212						
128	0,295						

Fuente: Cálculos propios.

Al comparar el cemento Grossman en todas sus concentraciones por intermedio de la prueba de Kruskal Wallis (p=0,004), el resultado muestra que existe diferencia estadísticamente significativa, siendo la más significante el cemento Grossman al 2 %, por tener mayor mediana, 0,093. Al utilizar la misma prueba para comparar el cemento MTA Fillapex® en sus diferentes concentraciones, el resultado no fue estadísticamente significativo (p=0,713) (tabla 2).

Tabla 2. Análisis comparativo de cada una de las concentraciones de los cementos

Concentraciones de los cementos	N	Media	Mediana	Desviación Estandar	VMi	VMx
Grossman 0,5	6	0,0885	0,088	0,00321	0,08	0,09
Grossman 1	6	0,0865	0,085	0,00437	0,08	0,1
Grossman 2	6	0,0928	0,093	0,00271	0,09	0,1
Grossman 4	6	0,087	0,085	0,00569	0,08	0,1
Grossman 8	6	0,0887	0,0895	0,00308	0,08	0,09
Grossman 16	6	0,0908	0,0915	0,0024	0,09	0,09
Grossman 32	6	0,085	0,0855	0,00369	0,08	0,09
Grossman 64	6	0,086	0,086	0,00228	0,08	0,09
Grossman 128	6	0,083	0,083	0,0033	0,1	0,1

Continúa...



Concentraciones de los cementos	N	Media	Mediana	Desviación Estandar	VMi	VMx
Mta 0,5	6	0,0878	0,088	0,00349	0,08	0,09
Mta 1	6	0,084	0,085	0,00551	0,08	0,09
Mta 2	6	0,0893	0,089	0,00712	0,08	0,1
Mta 4	6	0,0838	0,0835	0,00553	0,08	0,09
Mta 8	6	0,0907	0,0925	0,00602	0,08	0,1
Mta 16	6	0,0885	0,089	0,01232	0,08	0,1
Mta 32	6	0,0873	0,0865	0,00612	0,08	0,1
Mta 64	6	0,0835	0,0855	0,00394	0,08	0,09
Mta 128	6	0,0903	0,094	0,01001	0,08	0,1

Fuente: Cálculos propios.

DISCUSIÓN

Este estudio comparó la actividad antimicrobiana de dos cementos obturadores de canales radiculares (MTA Fillapex® y Cemento de Grossman), a diferentes concentraciones, frente al *E. faecalis* por medio de la espectrofotometría. En el análisis de los datos que arroja el espectrofotómetro se obtuvo que no hay diferencia significativa en la actividad antimicrobiana al comparar ambos cementos en diferentes concentraciones, debido a que las pruebas estadísticas arrojaron unos valores de P superiores a 0.05, pero al comparar el mismo cemento a diferentes concentraciones se observó que el cemento de Grossman sí presenta significancia estadística en todas sus concentraciones. Se determinó además, que el cemento de Grossman al 2 % presenta mayor actividad antimicrobiana en comparación con las demás concentraciones, pero al comparar el MTA Fillapex® en sus diferentes concentraciones no hay diferencia significativa.

Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Ustun y et al. en 2013, quienes afirman que el MTA Fillapex® a los 20 minutos no presenta actividad antimicrobiana contra el *E faecalis*; el primer día era bacteriostático y a los 7 y 30 días era bactericida (16). El MTA Fillapex® contiene óxido de calcio, que forma hidróxido de calcio en contacto con el agua, lo cual le confiere la propiedad antibacteriana; además contiene silicato de calcio, el cual con la humedad de la dentina genera el inicio de una reacción de hidratación de los silicatos de calcio; el hidrogel de silicato de calcio e hidróxido de calcio existente generan el alto pH y la subsiguiente propiedad antibacteriana (1917).



En nuestro estudio, la ausencia de actividad antimicrobiana del MTA Fillapex fue determinada por el espacio de tiempo reducido para generar la reacción de hidratación.

Igualmente, Ghasemi y cols. en 2015 evaluaron la actividad antibacteriana de los cementos obturadores de canales MTA Fillapex®, ApexitPlus, Dorifill y Epiphany frente al *E. faecalis*, y concluyeron que el MTA Fillapex presenta mayor actividad antimicrobiana a los 3, 5 y 7 días. Dichos resultados se contraponen a los de este estudio (3), por haber sido realizado en un tiempo reducido y específico.

La evaluación de la actividad antimicrobiana de los cementos obturadores de canales se ha realizado mayoritariamente por el método de difusión en agar, mediante el cual se determina en forma cualitativa el efecto antimicrobiano.

Kuga y cols. en 2013 afirmaron que aunque todos los cementos generan zonas de inhibición bacteriana, no hay diferencia significativa entre la actividad antimicrobiana del MTA Fillapex®, Sealapex y AH Plus contra el *E. faecalis* y *S. aureus* (1921). Por su parte Melek Gürel y cols. en 2016 comparan la actividad antimicrobiana del Smartpaste Bio, MTA Fillapex y AH Plus y concluyeron que el Smartpaste Bio tiene mayor actividad antimicrobiana frente al *E. faecalis*.

Los estudios anteriores presentan la desventaja de la prueba de difusión en agar, en la cual el resultado de este método no depende únicamente de la toxicidad del material para el microorganismo en particular, sino que también está altamente influenciado por la difusión del material a través del medio (12).

En nuestro estudio, a diferencia de los anteriores, se empleó el método de dilución, apropiado para determinar en forma cuantitativa la actividad antimicrobiana de los cementos mediante la técnica de concentración mínima inhibitoria (CMI), con la cual se define la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento visible del microorganismo (13).

Por otra parte, los estudios reportados sobre efectividad antimicrobiana de cementos biocerámicos contra el *E. faecalis* utilizando esta metodología son muy pocos; estudios como el de Faria-Junior y cols. en 2013 evaluaron el efecto antimicrobiano del AH Plus, Sealer 26, Epiphany SE, Sealapex, Activ GP, MTA Fillapex® contra el *E. faecalis*, utilizando la prueba modificada de contacto (DTC), a las 5, 10 y 15 horas, en la cual el sealapex y el MTA Fillapex® se asociaron a la reducción del número de bacterias (2022).



Poggio, Trovati y cols. en 2017 evaluaron la actividad antimicrobiana de varios cementos obturadores de canales (BioRoot™RCS, TotalFill BC Sealer, MTA Fillapex, Sealapex Root Canal Sealer, AH Plus, EasySeal, Pulp Canal Sealer™, N2.) frente al *E. faecalis* mediante dos métodos diferentes: test de difusión en agar (ADT) y test de contacto directo (DTC), y concluyeron que al utilizar ADT los cementos a base de óxido de zinc tienen mayor actividad antimicrobiana contra el *E. faecalis*, atribuible a la presencia de óxido de zinc y paraformaldehído en su composición (8, 1820).

En lo que respecta al MTA Fillapex®, los estudios lo evidencian como un cemento biocerámico que se presenta como una alternativa eficiente en la obturación de conductos radiculares debido a su capacidad de sellado de canales laterales, con un efecto antimicrobiano atribuible a su hidrofilicidad, liberación de hidróxido de calcio activo y alto pH (13). Por el contrario, selladores a base de óxido de zinc - eugenol, como el cemento de Grossman, fueron investigados extensivamente y se utilizaron como controles positivos en ensayos de actividad de antimicrobianos (14, 2116, 23).

CONCLUSIÓN

No hay diferencia significativa en la actividad antimicrobiana del MTA Fillapex® y el cemento de Grossman contra el *E. faecalis*.

Al comparar el cemento de Grossman al 2 %, este tiene mayor efecto antimicrobiano en comparación con el mismo cemento a diversas concentraciones.

REFERENCIAS

Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M. Combined antibacterial effect of sodium hypochlorite and root canal sealers against Enterococcus faecalis biofilms in dentin canals. *J Endod*. 2015;41(8):1294-8. Doi: https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.04.023.

Hasheminia M, Razavian H, Mosleh H, Shakerian B. In vitro evaluation of the antibacterial activity of five sealers used in root canal therapy. *Dent Res J.* 2017;14(1):62-65.

Ghasemi N. Antimicrobial effects of Apexit Plus, Epiphany, MTA Fillapex and Dorifill sealers on Enterococcus faecalis at different time intervals: Tabriz University; 2015. 2 (4): 10-15.

García Ávila G, García Aranda RL, Perea Mejía LM. Comparación in vitro de la actividad antimicrobiana de AhPlus, RSA y Ledermix contra Enterococcus faecalis. *Rev Odontol Mex.* 2013;17 (3):156-60.



- Pardi G, Guilarte C, Cardozo EI, Briceño EN. Detección de Enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. *Acta odontol venez*. 2009;47(1):1-11.
- Jamet A, Dervyn R, Lapaque N, Bugli F, Perez-Cortez NG, Blottière HM et al. The Enterococcus faecalis virulence factor ElrA interacts with the human Four-and-a-Half LIM Domains Protein 2. *Sci Rep.* 2017;7(1):45-81. Doi: https://doi.org/10.1038/s41598-017-04875-3
- Rivas MA, Shadia Y, Daboin I, Díaz C, Salas EJ, Paredes LEU. Frecuencia de aislamiento y susceptibilidad Enterococcus faecalis en pacientes endodónticos. *Rev Odontol Andes*. 2012;7(1):15-23.
- Poggio C, Trovati F, Ceci M, Colombo M, Pietrocola G. Antibacterial activity of different root canal sealers against Enterococcus faecalis. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(6):37-43. Doi: https://doi.org/10.4317/jced.53753
- Hena Rahman RC, Divya Chowdhary, Shailja Singh, Supratim Tripathi, Syed Zaki Anwar. Antimicrobial Activity of MTA Fillapex, Real Seal SE, Acroseal and Zinc oxide Eugenol Sealers against Enterococcus Faecalis and Candida Albicans. *IOSR-JDMS*. January 2017;16(1):66-9. Doi: https://doi.org/10.9790/0853-1601046669
- Razavian H, Barekatain B, Shadmehr E, Khatami M, Bagheri F, Heidari F. Bacterial leakage in root canals filled with resin-based and mineral trioxide aggregate-based sealers. *Dent Res J.* 2014;11(5):599.
- Shakya VK, Gupta P, Tikku AP, Pathak AK, Chandra A, Yadav RK et al. An Invitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy and Flow Characteristics for AH Plus, MTA Fillapex, CRCS and Gutta Flow 2 Root Canal Sealer. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(8):ZC104. Doi: https://doi.org/1010.7860/JCDR/2016/20885.8351
- Gürel M, Demiryürek EÖ, Özyürek T, Gülhan T. Antimicrobial activities of different bioceramic root canal sealers on various bacterial species. *Int J Appl Dent Sci*; 2016; 2(3): 19-22
- Azar NG, Heidari M, Bahrami ZS, Shokri F. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. J *Endod.* 2000;26(8):462-5. Doi: https://doi.org/10.1097/00004770-200008000-00008.
- Jafari F, Kafil HS, Jafari S, Aghazadeh M, Momeni T. Antibacterial Activity of MTA Fillapex and AH 26 Root Canal Sealers at Different Time Intervals. *Iran Endod J.* 2016;11(3):192 7. Doi: https://doi.org/10.7508/iej.2016.03.009.
- Yoshino P, Nishiyama CK, Modena KCdS, Santos CF, Sipert CR. In vitro cytotoxicity of white MTA, MTA Fillapex® and Portland cement on human periodontal ligament fibroblasts. *Braz Dent J.* 2013;24(2):111-6. Doi: https://doi.org/10.1590/0103-6440201302115.



- Ustun Y, Sagsen B, Durmaz S, Percin D. In vitro antimicrobial efficiency of different root canal sealers against Enterecoccus faecalis. *European J Gen Dent*. 2013;2(2):134.
- Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against Enterococcus faecalis. *J Endod*. 2009;35(7):1051-5. Doi: https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.04.022.
- Zhou H-m, Du T-f, Shen Y, Wang Z-j, Zheng Y-f, Haapasalo M. In Vitro cytotoxicity of calcium silicate–containing endodontic sealers. *J Endod*. 2015;41(1):56-61. Doi: https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.09.012.
- Kuga MC, Faria G, Weckwerth PH, Duarte MAH, Campos EAD, Só MVR et al. Evaluation of the pH, calcium release and antibacterial activity of MTA Fillapex. *Rev Odontol UNESP*. 2013;42(5):330-5.
- Faria-Júnior N, Tanomaru-Filho M, Berbert FLCV, Guerreiro-Tanomaru J. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int Endod J.* 2013;46(8):755-62. Doi: https://doi.org/10.1111/iej.12055.
- Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SDd, Antunes FC, Cogo DM, Kopper P. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J.* 2011;44(12):1128-33. https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01931.x

