

Efeito antimicrobiano *in vitro* do Agregado Trióxido Mineral (MTA) sobre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas

Cássio Vicente Pereira¹  | Natália Galvão Garcia¹  | Pedro Gustavo Machado²  | Luciano José Pereira² 

¹ Faculdade de Odontologia, Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, Lavras, Minas Gerais, Brasil

² Departamento de Medicina, Faculdade de Ciências da Saúde – FCS, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, Minas Gerais, Brasil

Introdução: o Agregado Trióxido Mineral (MTA) é amplamente empregado na Endodontia por suas propriedades biocompatíveis e potencial antimicrobiano. No entanto, a influência do estado físico do material sobre sua atividade antibacteriana ainda carece de investigação padronizada.

Objetivo: Avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana do MTA branco e cinza em diferentes formas de apresentação — pó, recém-manipulado e pós-presa — frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Materiais e Métodos: utilizou-se o método de difusão em ágar (Mueller-Hinton) para avaliação da atividade antimicrobiana do MTA branco e cinza (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Brasil) frente a culturas puras de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados foram submetidos à ANOVA seguida do teste de Tukey ($\alpha=5\%$).

Resultados: o MTA cinza em pó apresentou os maiores halos de inibição (até 14,33 mm para *S. aureus*), enquanto as formas recém-manipuladas exibiram os menores valores. Bactérias Gram-negativas demonstraram menor sensibilidade em relação às Gram-positivas.

Conclusões: o estado físico do MTA influencia diretamente sua atividade antimicrobiana *in vitro*. Os achados devem ser interpretados com cautela, dado o delineamento experimental *in vitro*, que não reproduz integralmente as condições clínicas dos canais radiculares.

Descritores: cimentos dentários; antibacterianos; testes de sensibilidade microbiana; *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis*; cimento de silicato.

Data recebimento: 2025-12-06

Data aceite: 2026-07-04

INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica moderna exige não apenas um selamento eficaz das vias de acesso pulpar e perirradicular, mas também um material biocerâmico capaz de contribuir para o

controle microbiano e a regeneração tecidual. O cimento à base de compostos cimentícios hidráulicos, conhecido como Agregado Trióxido Mineral (MTA), foi introduzido na odontologia para reparos de perfurações, selamento apical e retrobturações, destacando-se por sua

Autor para Correspondência:

Prof. Luciano José Pereira

Setor de Bioquímica, Fisiologia e Farmacologia – Departamento de Medicina. Faculdade de Ciências da Saúde – FCS. Universidade Federal de Lavras – UFLA. Caixa Postal 3037 – CEP 37200-900. Lavras – Minas Gerais – Brasil

E-mail: lucianojosepereira@ufla.br

biocompatibilidade, capacidade de selamento e liberação de íons cálcio e hidroxila durante o processo de hidratação¹. Essa liberação iônica resulta em um meio alcalino que, além de favorecer a regeneração periapical, confere ao material potencial antimicrobiano². Entre os materiais biocerâmicos à base de silicato de cálcio, o MTA destaca-se como o mais consolidado clinicamente, com aplicações que abrangem capeamento pulpar, reparo de perfurações radiculares, apicificação e retrobturação, em razão de sua biocompatibilidade, capacidade de selamento e bioatividade³.

Estudos têm demonstrado que o MTA apresenta ação antibacteriana intrínseca, atribuída principalmente à formação de hidróxido de cálcio e ao aumento do pH do meio, o que inibe o crescimento de diversas bactérias orais⁴. No entanto, a magnitude dessa ação antimicrobiana parece depender de múltiplos fatores, incluindo a composição do material, o tempo de presa e o tipo de microrganismo testado. Em microrganismos resistentes, como *Enterococcus faecalis*, alguns estudos apontam que o MTA convencional apresenta atividade limitada, enquanto formulações modificadas, como o MTA com nanopartículas de prata ou vidro bioativo, demonstram eficácia superior¹.

Apesar da ampla aplicação do MTA, a literatura ainda apresenta divergências quanto aos resultados de sua atividade antimicrobiana. Parte dessa variabilidade decorre das diferenças metodológicas entre os estudos — tempo de presa, proporção de mistura, tipo de teste (difusão em ágar, contato direto ou eluição), além da diversidade microbiana testada⁵. Os estreptococos orais, em particular *S. mutans* e *S. sobrinus*, são colonizadores primários da cavidade oral com destacada capacidade de formação de biofilme e produção de fatores de virulência associados à cárie dentária — características que fundamentam sua inclusão em estudos comparativos de atividade antimicrobiana de materiais odontológicos⁶. A maioria dos trabalhos concentra-se em bactérias Gram-positivas, como *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, pela sua relevância na microbiota endodôntica e na resistência a procedimentos de limpeza e obturação². O *E. faecalis* é o patógeno predominante nas periodontites apicais refratárias, apresentando múltiplos mecanismos de virulência que lhe conferem capacidade de persistência mesmo após procedimentos de

desinfecção — incluindo invasão de túbulos dentinários, formação de biofilme resistente e modulação das respostas imune e óssea do hospedeiro — o que justifica sua inclusão prioritária em estudos que avaliam a eficácia antimicrobiana de materiais endodônticos⁷.

Bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, embora não sejam os microrganismos mais prevalentes na microbiota endodôntica primária, estão frequentemente associadas a infecções secundárias e à persistência de biofilmes em canais radiculares de dentes com comprometimento periodontal ou imunossupressão, justificando sua inclusão neste estudo comparativo. Estudos de microbiota endodôntica demonstraram que bactérias Gram-negativas facultativas predominam em infecções primárias, enquanto infecções secundárias apresentam maior proporção de Gram-positivas anaeróbias — padrão que sustenta a relevância de avaliar materiais de reparo frente a ambos os grupos⁸. A análise comparativa do microbioma de infecções endodônticas primárias e secundárias por sequenciamento de nova geração confirma a diversidade bacteriana nos canais radiculares comprometidos, identificando perfis distintos entre os dois grupos e fundamentando a importância de materiais com espectro antimicrobiano ampliado⁹.

Outro aspecto relevante refere-se ao estado físico do material durante o ensaio. Estudos comparativos demonstram que a atividade antimicrobiana do MTA pode variar significativamente quando o material é testado em pó, imediatamente após a manipulação ou após o tempo de presa⁴. Isso ocorre porque a disponibilidade de íons cálcio e o pH elevado são mais intensos nas primeiras horas após a mistura, decaindo gradualmente com o endurecimento do material. Assim, a condição experimental é determinante para interpretar a real eficácia antimicrobiana e sua possível correlação com o comportamento clínico.

Embora o MTA seja amplamente empregado na prática clínica, a compreensão de seu comportamento antimicrobiano frente a diferentes grupos bacterianos ainda carece de investigação padronizada e comparativa. A lacuna de conhecimento reside especificamente na ausência de estudos que comparem sistematicamente o efeito das diferentes formas físicas do MTA — pó, recém-manipulado e pós-presa — frente a um espectro ampliado

de microrganismos, incluindo espécies Gram-negativas. Do ponto de vista clínico, esses dados são relevantes para orientar a escolha do estado de aplicação do MTA em situações que demandam atividade antimicrobiana imediata, como em procedimentos de reparo de perfurações ou selamento apical em casos de periodontite apical persistente.

O objetivo do presente estudo foi avaliar, *in vitro*, a atividade antimicrobiana do MTA branco e cinza em diferentes condições de manipulação — pó, imediatamente após a manipulação e após tempo de presa — frente a culturas puras isoladas de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Enterococcus faecalis*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliação do efeito antimicrobiano do MTA (branco e cinza) no presente estudo, foram utilizadas diferentes condições de manipulação deste material: pó, imediatamente após a manipulação e após tempo de presa, frente a culturas puras de isolados clínicos de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O MTA branco e o MTA cinza utilizados neste estudo foram obtidos da marca Angelus Soluções Odontológicas (Londrina, Paraná, Brasil), compostos essencialmente por silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico e óxido de bismuto como radiopacificador. A manipulação foi realizada seguindo as instruções do fabricante, com proporção pó/líquido de 3:1 (g/mL) e tempo de presa de 15 minutos para fins de padronização. O experimento foi realizado em condições assépticas no interior de uma capela de fluxo laminar. O meio de cultura, a água destilada e os instrumentais utilizados foram esterilizados em autoclave a 120° C, durante 20 minutos a 1 atm.

As amostras de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas são pertencentes ao acervo de microrganismos da disciplina de Microbiologia e Imunologia do Centro Universitário de

Lavras – UNILAVRAS no qual as espécies são mantidas sob congelamento (freezer 20° C) em alíquotas de 5,0 mL em meio de cultura BHI (Brain Heart Infusion) adicionado de 10% de glicerol. Neste estudo foram utilizados os morfotipos de bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Enterococcus faecalis*, e bactérias Gram-negativas: *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

As culturas bacterianas foram descongeladas, inoculadas em meio BHI e incubadas por 24h a 37°C em aerobiose. Posteriormente ao período de incubação, o número de células de cada microrganismo foi padronizado de acordo com a turbidez do tubo n° 1 da escala de Mc Farland, o qual compõe a aproximadamente 3×10^8 UFC/mL.

Foram preparadas 54 placas de Petri previamente esterilizadas contendo meio de cultura Müller-Hinton Agar no volume necessário para obter 5mm de espessura. As 54 placas foram distribuídas da seguinte forma: 9 placas para cada espécie bacteriana testada (6 espécies $\times$ 9 placas = 54 placas), sendo cada placa destinada a avaliar os 6 grupos de MTA (pó branco, pó cinza, manipulado branco, manipulado cinza, pós-presa branco, pós-presa cinza) em triplicata, com cada placa contendo 4 poços (3 materiais + 1 controle). Uma alíquota de 0,1 mL de cada cultura dos microrganismos a serem testados foram isoladamente inoculados em triplicata espalhando a cultura sobre o meio com alça de vidro Drigalsk. Em cada placa, quatro perfurações foram feitas em pontos equidistantes com aproximadamente 4mm de diâmetro para receber os materiais, o controle positivo (clorexidina 2%) e o controle negativo (água destilada) (Figura 1). A clorexidina é amplamente empregada como controle positivo em ensaios de difusão em ágar para avaliação de materiais dentários, dado seu reconhecido espectro antimicrobiano de amplo alcance, incluindo ação sobre *S. mutans* e outras espécies orais, com halos de inibição superiores aos observados para a maioria dos materiais testados¹⁰.

Figura 1. Halos de inibição do MTA branco e cinza em diferentes formas de apresentação (pó, recém-manipulado e pós-presa) contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *E. faecalis*) e Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*).



Nota: Valores expressos em milímetros (mm).

A escolha do método de difusão em ágar foi baseada em sua ampla utilização para avaliação de materiais odontológicos, conforme recomendado por estudos prévios⁵. Reconhece-se, entretanto, que este método apresenta limitações inerentes, como a dependência da capacidade de difusão do material através do ágar, podendo subestimar a atividade antimicrobiana de materiais com menor solubilidade, como o MTA nas formas manipulada e pós-presa. Métodos alternativos, como o teste de contato direto ou eluição, poderiam complementar os dados obtidos em estudos futuros.

Os cimentos MTA Branco/MTA cinza em estudo foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante e colocados nos poços. Previamente à incubação, as placas foram mantidas a temperatura ambiente por 30 minutos para permitir a pré-difusão dos materiais através do ágar. As placas com o meio

de cultura Müller-Hinton inoculadas para o teste de difusão em Agar foram incubadas a 37°C por 24h para avaliação do efeito inibitório de cada material testado, em diferentes condições de manipulação, frente às diferentes espécies de microrganismos.

Após a incubação foi realizada a avaliação da presença ou ausência de halo de inibição de crescimento microbiano, em torno dos poços. Quando presente, seu diâmetro foi medido com boas condições de luminosidade com auxílio de uma régua milimetrada com precisão de 0,5mm.

Os dados obtidos a partir da medida do diâmetro dos halos de inibição foram analisados de forma descritiva, comparando-se a atividade antimicrobiana dos materiais sobre as diferentes espécies microbianas. Os resultados foram submetidos a análise estatística (ANOVA – Tukey), em nível de significância de 5%. A

unidade experimental considerada foi o halo de inibição individual (mm) por poço. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os diâmetros dos halos, para cada material testado frente a cada cultura microbiana, foram determinados pelos valores médios dos três registros.

RESULTADOS

Os resultados da análise comparativa

entre o efeito antimicrobiano do MTA em diferentes formas de apresentação sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas são expressos na Tabela 1. A ação antimicrobiana do MTA sobre a espécie *S. aureus* demonstrou maior halo de inibição quando o material foi testado em pó cinza (14,33 mm) com diferença estatisticamente significativa em relação a este material nas formas recém manipuladas com pó branco (6,33 mm) e pós-presas com pó cinza (10,0 mm).

Tabela 1. Análise de variância (ANOVA - Tukey) para os halos de inibição entre as diferentes formas e manipulações de MTA em modelos com diferentes espécies bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas.

	Pó Branco	Pó Cinza	Manipulado Branco	Manipulado Cinza	Pós-presas Branco	Pós-presas Cinza
<i>S. aureus</i>	12,67 ^{abA}	14,33 ^{aA}	6,33 ^{ca}	10,33 ^{abcA}	11,0 ^{abA}	10,00 ^{ba}
<i>S. mutans</i>	9,67 ^{abAB}	14,00 ^{aA}	5,67 ^{ba}	3,33 ^{bB}	10,33 ^{aA}	10,00 ^{abA}
<i>S. sobrinus</i>	10,67 ^{aAB}	11,00 ^{aAB}	6,33 ^{ba}	8,00 ^{abAB}	9,67 ^{abA}	11,33 ^{aA}
<i>E. faecalis</i>	11,67 ^{abAB}	14,00 ^{aAB}	9,00 ^{ba}	10,00 ^{ba}	11,00 ^{abA}	11,67 ^{abA}
<i>E. coli</i>	9,33 ^{abB}	10,00 ^{abB}	6,33 ^{aA}	8,33 ^{aAB}	9,66 ^{abA}	11,33 ^{ba}
<i>P. aeruginosa</i>	11,00 ^{abAB}	9,67 ^{abB}	6,67 ^{aA}	6,33 ^{aAB}	10,67 ^{abA}	11,33 ^{ba}

Nota: ^a Letras minúsculas divergentes indicam diferença estatística significativa na mesma linha (diferentes formas de manipulação para o mesmo microrganismo). ^A Letras maiúsculas divergentes indicam diferença estatística significativa na mesma coluna (entre os diferentes microrganismos para o mesmo material e mesma forma de manipulação).

Para as espécies de estreptococos do grupo mutans – *S. mutans* e *S. sobrinus* – o MTA na forma de pó cinza apresentou maior efeito inibitório, com halos de 14,0 mm e 11,0 mm, respectivamente. Esses valores diferiram estatisticamente em relação às formas de MTA recém manipulado com pó branco (5,67 mm) e recém manipulado com pó cinza (3,33 mm) para a espécie *S. mutans*, e em relação à forma recém manipulada com pó branco (6,33 mm) para a espécie *S. sobrinus*.

A espécie bacteriana *E. faecalis* mostrou maior sensibilidade à ação do MTA quando este foi testado na forma de pó cinza (14,0 mm). Este resultado mostrou diferença significativa, pelo teste ANOVA – Tukey, quando comparado ao MTA recém manipulado com pó branco (9,0 mm) e pó cinza (10,0 mm).

O MTA na forma pós-presas com pó cinza apresentou halo de inibição de 11,33 mm, demonstrando maior efeito inibitório sobre *E. coli* e *P. aeruginosa*. Esse valor foi estatisticamente superior à ação antimicrobiana do MTA, frente a essas espécies, em relação ao teste nas formas recém manipuladas com pó branco e cinza com resultados de 6,33 mm e 8,33 mm para *E. coli*, e 6,67 mm e 6,33 mm para *P. aeruginosa*, respectivamente.

As bactérias *S. aureus* e *E. coli* apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si quando submetidas ao efeito antimicrobiano do MTA na forma de pó branco. Para as espécies de *S. aureus* (12 mm), o halo obteve um efeito inibitório superior às espécies de *E. coli* (9,33 mm), que se mostraram mais sensíveis ao MTA. Cabe destacar que, apesar

do halo numericamente menor, a diferença entre essas espécies foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), refletindo distinções na sensibilidade intrínseca de cada microrganismo ao material.

As espécies bacterianas Gram-positivas *S. aureus* e *S. mutans* mostraram um maior halo de inibição se comparadas as Gram-negativas *E. coli* e *P. aeruginosa* quando o MTA se apresentava na forma de pó cinza, sendo os valores estatisticamente significativos de 14,33 mm e 14 mm para as Gram-positivas e 10 mm e 9,67 mm para as Gram-negativas, respectivamente. O halo de inibição do MTA cinza em sua forma manipulado foi superior para as bactérias *S. aureus* (10,33 mm) e *E. faecalis* (10 mm). Estes valores se diferem estatisticamente quando comparados com o *S. mutans* (3,33 mm).

Todos os grupos de bactérias testadas foram sensibilizadas pelo MTA na sua forma pós-presa (branco e cinza) e manipulado na cor branca, sendo que estes não apresentaram valores estatísticos significativos entre si.

No presente estudo, os controles positivo (clorexidina 2%) e negativo (água destilada) foram incluídos com a finalidade primária de validar a integridade do modelo experimental, e não como grupos de comparação em relação aos materiais testados¹¹. A clorexidina 2% produziu halos de inibição expressivos em todas as espécies avaliadas, e a água destilada não gerou qualquer zona de inibição, confirmando a validade e a sensibilidade do modelo experimental.

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo confirmam que o MTA apresenta atividade antimicrobiana significativa contra todas as espécies bacterianas avaliadas, embora sua eficácia varie substancialmente conforme a forma de apresentação e o tipo de microrganismo. A superioridade observada para o MTA cinza em pó, que gerou halos de inibição superiores a 14 mm para *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis*, está de acordo com achados recentes que demonstram maior liberação inicial de íons cálcio e hidroxila por cimentos à base de silicato de cálcio em sua forma não hidratada². Esses íons são responsáveis por elevar o pH do meio, favorecendo a inibição de microrganismos sensíveis à alcalinidade. A resistência do *E. faecalis* ao ambiente alcalino é mediada por mecanismos moleculares adaptativos, incluindo a superexpressão

de transportadores ABC que conferem ao microrganismo tolerância ao pH elevado — o que explica, ao menos parcialmente, sua menor sensibilidade a materiais cujo mecanismo primário de ação baseia-se na alcalinização do meio¹². A elevada tolerância do *E. faecalis* ao hidróxido de cálcio constitui um dos principais desafios no tratamento de infecções endodônticas persistentes, sendo mediada por mecanismos que incluem o aumento da permeabilidade de membrana como forma de resposta adaptativa — o que também pode explicar sua menor suscetibilidade a materiais à base de silicato de cálcio que dependem da alcalinização do meio como principal mecanismo de ação¹³. A capacidade do *E. faecalis* de regular sua metalhomeostase — incluindo sistemas de transporte de ferro, manganês e zinco — contribui para sua tolerância ao estresse oxidativo e às estratégias de sequestro de metais pelo hospedeiro, representando um fator adicional que pode reduzir sua suscetibilidade a materiais cujo mecanismo de ação envolve desequilíbrio iônico, como os cimentos à base de silicato de cálcio¹⁴.

No presente estudo, a clorexidina 2% confirmou a capacidade do ensaio de detectar inibição bacteriana, produzindo halos expressivos em todas as espécies avaliadas, enquanto a água destilada não apresentou atividade antimicrobiana, demonstrando que os halos observados foram atribuíveis aos materiais testados. Esses achados confirmam o comportamento esperado dos controles e reforçam a confiabilidade do ensaio de difusão em ágar. A não inclusão dos controles na análise estatística comparativa é metodologicamente justificável, uma vez que sua função principal foi verificar a validade do sistema experimental, conforme recomendado para estudos in vitro com agentes antimicrobianos¹¹.

Nas amostras contendo os materiais testados, a maior suscetibilidade das bactérias Gram-positivas, evidenciada pelos halos mais amplos obtidos para *S. aureus* e *S. mutans*, também corrobora com estudos que demonstram que microrganismos com parede celular espessa e mais porosa em peptidoglicano apresentam maior permeabilidade aos íons liberados pelo MTA^{1,15}. O potencial antimicrobiano de cimentos à base de silicato de cálcio está diretamente relacionado à sua alta alcalinidade após hidratação, conforme demonstrado por estudos que mensuraram correlação entre pH elevado e inibição de espécies como *S. aureus*, *S. mutans* e *E. faecalis* pelo método de difusão em

ágar¹⁶. Por outro lado, a menor sensibilidade das espécies Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, é amplamente discutida na literatura e está relacionada à presença de uma membrana externa lipopolissacarídica que impede a difusão eficiente dos agentes antimicrobianos⁵.

O comportamento diferenciado observado entre as formas recém-manipuladas, pós-presa e em pó também foi reportado previamente por vários autores. Cimentos em fase inicial de hidratação tendem a apresentar menor atividade antimicrobiana porque ainda não ocorreram reações suficientes para a liberação plena dos íons hidroxila, responsáveis pelo aumento progressivo do pH¹⁷. Esse mesmo comportamento foi observado neste estudo, no qual o MTA recém manipulado apresentou halos significativamente menores em todas as espécies analisadas.

Por sua vez, o desempenho intermediário da forma pós-presa, especialmente contra bactérias Gram-negativas, encontra suporte em estudos que demonstram que, embora a liberação de íons seja mais intensa nos primeiros instantes de hidratação, o MTA mantém atividade antimicrobiana residual devido à lenta e contínua liberação de íons cálcio durante a cura². Essa manutenção do pH alcalino explica, ao menos parcialmente, a ação antimicrobiana persistente observada neste experimento.

O MTA branco e o MTA cinza pertencem à primeira geração dos materiais biocerâmicos à base de silicato de cálcio. Embora apresentem excelentes propriedades biológicas, ambos apresentam limitações clínicas relevantes que devem ser consideradas. O MTA cinza, em particular, está associado à alteração de cor da coroa dental, o que restringe seu uso em dentes anteriores. Adicionalmente, a manipulação do MTA em forma de pó apresenta desafios relacionados à consistência da mistura e ao controle da proporção pó/líquido, podendo afetar as propriedades físico-químicas finais do material. Formulações de segunda e terceira gerações, como o Biodentine e materiais biocerâmicos pré-misturados, foram desenvolvidas para superar parte dessas limitações, apresentando melhor manuseabilidade e menor potencial de manchamento⁴.

Nos últimos anos, diferentes autores têm buscado modificar o MTA para ampliar sua ação antimicrobiana. A literatura mostra que a incorporação de nanopartículas metálicas, como o óxido de zinco, aumenta significativamente sua eficácia contra microrganismos resistentes

como *E. faecalis*, enquanto outras pesquisas demonstram resultados promissores com aditivos naturais, como extratos vegetais, que intensificam a atividade biológica sem comprometer as propriedades físico-químicas do material¹. Esses achados reforçam a relevância da comparação realizada no presente estudo entre as diferentes formas físicas do MTA, evidenciando a importância de aprimorar sua ação frente a microrganismos de maior resistência biológica. A associação de nanopartículas de óxido de zinco com substâncias naturais tem sido investigada como estratégia para potencializar a ação antimicrobiana de materiais dentários, com resultados promissores frente a *S. mutans* pelo método de difusão em ágar, metodologia análoga à empregada no presente estudo¹⁰.

Em consonância com os nossos achados, estudos comparativos recentes mostram que o MTA apresenta desempenho superior ao de cimentos biocerâmicos alternativos e materiais de reparo radicular, especialmente em sua forma original baseada em silicato de cálcio^{4,17}.

Este estudo apresenta limitações inerentes ao delineamento *in vitro* que devem ser reconhecidas. O método de difusão em ágar, embora amplamente utilizado, pode subestimar a atividade antimicrobiana de materiais com baixa capacidade de difusão, como o MTA nas formas manipulada e pós-presa. Adicionalmente, os ensaios foram conduzidos com culturas planctônicas, não representando adequadamente as condições de biofilme presentes nos canais radiculares. A ausência de simulação clínica, como variação de pH e presença de fluidos teciduais, também limita a extrapolação direta para o contexto clínico. Portanto, os achados deste estudo devem ser interpretados com cautela, e pesquisas futuras com modelos mais próximos das condições *in vivo* são necessárias para confirmar a relevância clínica dos resultados obtidos. Revisões críticas apontam que, apesar das qualidades biológicas do MTA, suas limitações clínicas — como tempo de presa prolongado, dificuldade de manipulação e alteração cromática — impulsionaram o desenvolvimento de novas formulações de cimentos à base de silicato de cálcio com propriedades físico-químicas aprimoradas¹⁷.

Assim, ao confrontar nossos resultados com a literatura contemporânea, observa-se que o MTA continua sendo um dos materiais mais consistentes em termos de eficácia antimicrobiana, embora apresente limitações previsíveis contra bactérias Gram-negativas e em sua forma recém-manipulada. Os achados

reforçam a recomendação clínica do material e apontam direções relevantes para pesquisas futuras que explorem melhorias químicas, nanotecnológicas e biológicas que potencializem sua atividade antimicrobiana.

CONCLUSÕES

O MTA cinza em pó apresentou a maior atividade antimicrobiana *in vitro* entre as formas testadas, produzindo os maiores halos de inibição frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas avaliadas nas condições experimentais do presente estudo. As formas recém-manipuladas exibiram os menores valores de inibição, enquanto o MTA pós-presa demonstrou atividade antimicrobiana intermediária, com destaque para as bactérias Gram-negativas. O estado físico do MTA influenciou diretamente seu comportamento antimicrobiano *in vitro*, sendo essa variação observada de forma consistente entre as diferentes espécies microbianas testadas sob as condições do ensaio de difusão em ágar.

ORCID

Cássio Vicente Pereira: <https://orcid.org/0000-0003-1761-4917>

Natália Galvão Garcia: <https://orcid.org/0000-0002-1659-8524>

Pedro Gustavo Machado: <https://orcid.org/0000-0003-2684-7739>

Luciano José Pereira: <https://orcid.org/0000-0002-0502-2554>

DESCRIÇÃO DAS CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Cássio Vicente Pereira contribuiu com a Conceituação, Metodologia, Investigação, Supervisão, Análise Formal, Redação, Revisão e Edição, além da Administração do Projeto. Luciano José Pereira atuou na Conceituação, Metodologia, Supervisão, Validação e Redação, Revisão e Edição. Natália Galvão Garcia participou da Investigação, Curadoria de Dados, Visualização, Análise Formal e Redação, Revisão e Edição. Pedro Gustavo Machado contribuiu com a Curadoria de Dados, Visualização e Redação, Preparação do Rascunho Original.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Nenhum conflito de interesse a declarar.

REFERÊNCIAS

1. Velickovic S, Pavlovic S, Markovic BS, Jovanovic I, Zornic S, Kragovic M, et al. Evaluation of biocompatibility, antimicrobial activity, and immunomodulatory effects of mineral trioxide aggregate modified with zeolite-clinoptilolite as a root-end filling material. *BMC Oral Health*. 2025;25:1159. doi: 10.1186/s12903-025-06587-x
2. Moon S, Shin S, Oh S, Bae J. Antibacterial activity and sustained effectiveness of calcium silicate-based cement as a root-end filling material against *Enterococcus faecalis*. *Materials (Basel)*. 2023;16(18):6124. doi: 10.3390/ma16186124
3. Wang X, Xiao Y, Song W, Ye L, Yang C, Xing Y, et al. Clinical application of calcium silicate-based bioceramics in endodontics. *J Transl Med*. 2023;21:853. doi: 10.1186/s12967-023-04550-4
4. Ravindran V, Jeevanandan G. Comparative evaluation of the physical and antimicrobial properties of mineral trioxide aggregate, biodentine, and a modified fast-setting mineral trioxide aggregate without tricalcium aluminate: an *in vitro* study. *Cureus*. 2023;15(8):e42856. doi: 10.7759/cureus.42856
5. Acharya S, Gurunathan D, Sahoo D, Singh B, Sahoo A, Acharya S. Comparative evaluation of the antimicrobial activity of NeoPutty MTA and modified NeoPutty MTA: an *in vitro* study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2023;13(6):493-9. doi: 10.4103/jispcd.JISPCD_68_23
6. Bloch S, Hager-Mair FF, Andrukhov O, Schäffer C. Oral streptococci: modulators of health and disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024;14:1357631. doi: 10.3389/fcimb.2024.1357631
7. Deng Z, Lin B, Liu F, Zhao W. Role of *Enterococcus faecalis* in refractory apical periodontitis: from pathogenicity to host cell response. *J Oral Microbiol*. 2023;15:2184924. doi: 10.1080/20002297.2023.2184924
8. Korona-Glowniak I, Piatek D, Fornal E, Lukowiak A, Gerasymchuk Y, Kedziora A, et al. Patterns of oral microbiota in patients with apical periodontitis. *J Clin Med*. 2021;10(12):2707. doi: 10.3390/

- jcm10122707
9. Kesim B, Ülger ST, Aslan G, Cudal H, Üstün Y, Küçük MÖ. Amplicon-based next-generation sequencing for comparative analysis of root canal microbiome of teeth with primary and persistent/secondary endodontic infections. *Clin Oral Investig*. 2023;27(3):995-1004. doi: 10.1007/s00784-023-04882-x
 10. Mehrabkhani M, Movahhed T, Arefnezhad M, Hamed S, Faramarzian F. Antimicrobial effect of hydro-alcoholic extract of apple with and without zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans*. *Eur J Transl Myol*. 2023;33(4):11623. doi: 10.4081/ejtm.2023.11623
 11. Meire MA, van der Waal SV. A critical analysis of research methods and experimental models to study intracanal medicaments. *Int Endod J*. 2022;55 Suppl 2:330-45. doi: 10.1111/iej.13694
 12. Jiang W, Zhang Y, Yan J, He Z, Chen W. Differences of protein expression in *Enterococcus faecalis* biofilm during resistance to environmental pressures. *Technol Health Care*. 2024;32(1 Suppl):371-83. doi: 10.3233/THC-248033
 13. Liu C, Li Y, Li Y, Li Z, Han G. Synergistic antibacterial effect of ginsenoside Rh2 and calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis*. *Odontology*. 2025;113:111-25. doi: 10.1007/s10266-024-00951-z
 14. Ali IA, Cheung GS, Neelakantan P. Transition metals and *Enterococcus faecalis*: homeostasis, virulence and perspectives. *Mol Oral Microbiol*. 2022;37(6):276-91. doi: 10.1111/omi.12391
 15. Chakravorty A, Ravindran V, Jeevanandan G, Arthanari A. The cytotoxic assessment of antibacterial-enhanced mineral trioxide aggregate compared to commercially available bioceramic cements by using methyl-thiazoldiphenyl-tetrazolium (MTT) assay on human dental pulp stem cells: an in vitro study. *Cureus*. 2023;15(11):e49691. doi: 10.7759/cureus.49691
 16. ElReash AA, Hamama H, Eldars W, Lingwei G, Zaen El-Din AM, Xiaoli X. Antimicrobial activity and pH measurement of calcium silicate cements versus new bioactive resin composite restorative material. *BMC Oral Health*. 2019;19:235. doi: 10.1186/s12903-019-0933-z
 17. Chaudhari PS, Chandak MG, Jaiswal AA, Mankar NP, Paul P. A breakthrough in the era of calcium silicate-based cements: a critical review. *Cureus*. 2022;14(8): e28562. doi: 10.7759/cureus.28562

***In vitro* antimicrobial effect of Mineral Trioxide Aggregate (MTA) on gram-negative and gram-positive bacteria**

Introduction: Mineral Trioxide Aggregate (MTA) is widely used in endodontics for its biocompatible properties and antimicrobial potential. However, the influence of the material's physical state on its antibacterial activity still lacks standardized investigation.

Objective: to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of white and gray MTA in different presentation forms—powder, freshly mixed, and set—against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Materials and Methods: the agar diffusion method (Mueller-Hinton) was used to assess the antimicrobial activity of white and gray MTA (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Brazil) against pure cultures of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Results were analyzed by ANOVA followed by Tukey's test ($\alpha=5\%$).

Results: gray MTA powder produced the largest inhibition halos (up to 14.33 mm for *S. aureus*), while freshly mixed forms showed the lowest values. Gram-negative bacteria exhibited lower sensitivity compared to Gram-positive species.

Conclusions: the physical state of MTA directly influences its *in vitro* antimicrobial activity. Findings should be interpreted with caution given the *in vitro* experimental design, which does not fully replicate clinical root canal conditions.

Uniterms: dental cements; anti-bacterial agents; microbial sensitivity tests; *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis*; silicate cement.