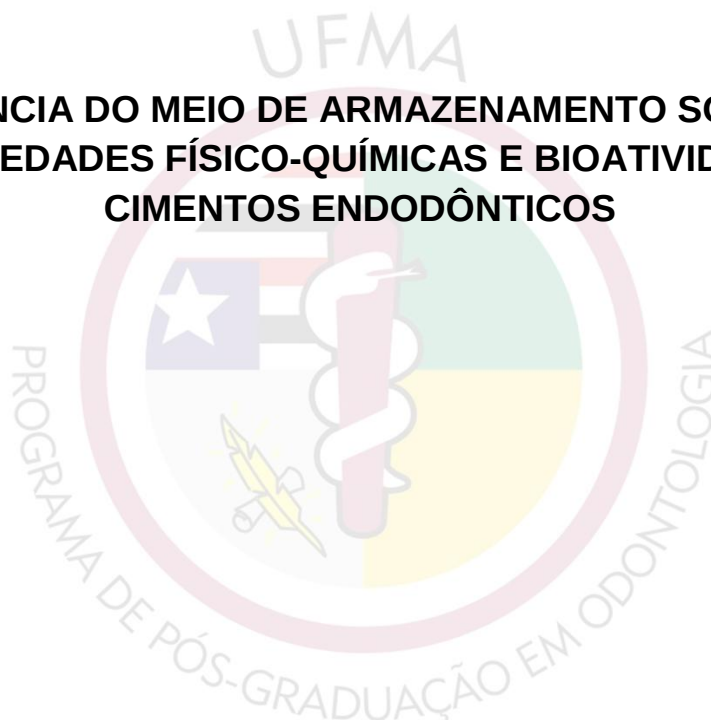




UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



INFLUÊNCIA DO MEIO DE ARMAZENAMENTO SOBRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E BIOATIVIDADE DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS



**SÃO LUÍS
2020**

THAÍS GOMES DE MORAES MENESES

**INFLUÊNCIA DO MEIO DE ARMAZENAMENTO SOBRE AS PROPRIEDADES
FÍSICO-QUÍMICAS E BIOATIVIDADE DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer

**SÃO LUÍS
2020**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Gomes de Moraes Meneses, Thais.

INFLUÊNCIA DO MEIO DE ARMAZENAMENTO SOBRE AS
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E BIOATIVIDADE DE CIMENTOS
ENDODÔNTICOS / Thais Gomes de Moraes Meneses. - 2020.
55 p.

Orientador(a): José Roberto de Oliveira Bauer.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São
Luís, 2020.

1. Bioatividade. 2. Cimentos endodônticos. 3. Meio
de armazenamento. 4. Propriedades fisico-químicas. I.
Roberto de Oliveira Bauer, José. II. Título.

THAÍS GOMES DE MORAES MENESES

INFLUÊNCIA DO MEIO DE ARMAZENAMENTO SOBRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E BIOATIVIDADE DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Doutorado em Odontologia,
em sessão pública realizada no dia 19 /10 /20 , considerou a candidato(a).

() APROVADO

() REPROVADO

1) Examinador: Prof. Dr. João Inácio Lima de Souza

2) Examinador: Prof. Dra. Soraia de Fátima Carvalho Souza

3) Examinador: Prof. Dr. Alex Luiz Pozzobon Pereira

4) Examinador: Prof. Dra. Maria Carmen Fontoura Nogueira

5) Presidente (Orientador): Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Baeur

*“O começo de todas as
ciências é o espanto de as
coisas serem o que são”*

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde, por me guiar e amparar em todos os momentos.

Aos meus pais, Edirailton e Maria de Jesus, por todo o amor, apoio e incentivo durante todos esses anos de Graduação e Pós-Graduação. Vocês sempre serão minhas maiores referências.

Ao meu marido, Leandro Meneses, pelo companheirismo, paciência e amor durante todos esses anos. Agradeço por sempre ser um incentivador do meu crescimento profissional e por me proporcionar tanta segurança a cada novo desafio que me arrisco.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer, por todos os ensinamentos, pela compreensão, os puxões de orelha, as explicações sempre pacientes, o estímulo para continuar na pesquisa, o carinho e a amizade que sempre demonstrou por mim. Sempre serei grata e o terei como espelho de profissional e ser humano.

Ao Prof. Dr. Edilausson Moreno Carvalho, da universidade CEUMA, por todas as contribuições feitas durante o desenvolvimento deste trabalho e por sempre se mostrar disponível a ajudar.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, que sempre estiveram à disposição para colaborar no aprimoramento dos trabalhos desenvolvidos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA, pelo fomento concedido.

Aos técnicos dos diversos laboratórios da Universidade Federal do Maranhão onde foram realizados os ensaios deste trabalho, pela colaboração durante a coleta de dados.

A todos os amigos e colegas do mestrado e doutorado, pelos bons momentos que passamos durante essa jornada.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental do estudo.....	25
Figura 2 - Análise de Fluid uptake (%) para o cimento AH Plus.....	29
Figura 3 - Análise de Fluid uptake (%) para o cimento BioRoot.....	30
Figura 4 - Análise de pH AH Plus.....	33
Figura 5 - Análise de pH BioRoot.....	34
Figura 6 - Imagens em MEV do cimento AH Plus	35
Figura 7 - Imagens em MEV do cimento BioRoot	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fabricante, lote, composição e a apresentação dos cimentos endodônticos utilizados.....	23
Tabela 2 – Composição das soluções de armazenamento PBS e SBF.....	24
Tabela 3 – Resultados de sorção, solubilidade e fluid uptake expressos em valores absolutos ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) e porcentagem (%).....	31

RESUMO

Os cimentos biocerâmicos foram introduzidos na endodontia com o objetivo de superar as limitações biológicas que os cimentos endodônticos convencionais apresentam. A literatura atual mostra que os cimentos endodônticos biocerâmicos apresentam boa radiopacidade, fluidez, tempo de trabalho, capacidade de alcalinização do pH, atividade antibacteriana e biocompatibilidade. Entretanto, apresentam como desvantagem solubilidade superior ao padrão exigido ISO 6876/2012, que determina que um cimento endodôntico não deve exceder 3% de perda de massa após imersão em água destilada. Porém, críticas têm sido feitas a essa metodologia já que a água destilada não representa o meio a que de fato esses materiais são expostos. Sendo assim, modificações nos testes de sorção e solubilidade têm sido realizadas utilizando uma solução de fosfato salina (PBS) como meio de armazenamento, concluindo que cimentos biocerâmicos são menos solúveis quando imersos PBS. Especula-se que a menor solubilidade seja justificada pela deposição de uma camada de hidroxiapatita que preenche os espaços vazios gerados pela solubilidade. O presente trabalho propôs avaliar a influência de um meio de armazenamento altamente concentrado (SBF) nas propriedades de sorção, solubilidade, fluid uptake, bioatividade e capacidade de alcalinização do pH de um cimento biocerâmico (BioRoot RCS) e um cimento à base de resina epóxi (AH Plus). Foram confeccionados 24 corpos de prova para cada cimento testado, que posteriormente foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais (n=8). Os corpos foram dessecados por 30 dias, pesados e armazenados em recipientes contendo 5ml de água destilada, PBS ou SBF. As leituras de pH e as pesagens foram realizadas após 24 horas, 48 horas, 7, 30, 60 e 90 dias. Para análise da formação de precipitados, 2 espécimes de cada grupo foram selecionados e levados para a observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e leitura de composição por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Os dados de sorção/solubilidade/fluid uptake foram submetidos a Análise de Variância Two-Way (Solução vs. Cimento) e teste Holm-Sidak ($\alpha=0.05$) para contraste de média. A análise de pH, MEV e EDS, foram realizadas de forma descritiva. O AH Plus não sofreu influência da solução de armazenamento, para todas as propriedades avaliadas ($p>0,05$). O BioRoot apresentou maior solubilidade quando imerso em SBF, seguido da água e PBS, que não apresentaram diferenças significativas entre si. Houve formação de precipitados na superfície da amostra de BioRoot apenas em PBS e SBF. O AH Plus manteve o pH neutro, enquanto o BioRoot foi capaz de alcalinizar o meio. Portanto, o meio de armazenamento influenciou as propriedades físico-químicas e o potencial bioativo do cimento biocerâmico. Entretanto, testes

convencionais de sorção, solubilidade e fluid uptake realizados em água destilada não devem ser indicados para cimentos biocerâmicos, uma vez que estes não apresentam evidências sobre o seu comportamento *in vivo* e ainda mascaram a sua bioatividade, que o principal diferencial desses materiais.

Palavras-chave: cimento endodôntico, meio de armazenamento, propriedades físico-químicas, bioatividade.

ABSTRACT

Bioceramic sealers were introduced in endodontics in order to overcome the biological limitations that conventional endodontic sealers present. Current literature shows that bioceramic endodontic sealers have good radiopacity, fluidity, working time, pH alkalization capacity, antibacterial activity and biocompatibility. However, it has as a disadvantage, solubility higher than the required standard ISO 6876/2012, which determines that an endodontic sealer must not exceed 3% of mass loss after immersion in distilled water. However, criticisms have been made of this methodology since distilled water does not represent the medium to which these materials are actually exposed. Therefore, modifications in the sorption and solubility tests have been carried out using a phosphate saline solution (PBS) as a storage medium, concluding that bioceramic sealers are less soluble when immersed in PBS. It is speculated that the lower solubility is justified by the deposition of a layer of hydroxyapatite that fills the voids generated by the solubility. The present study proposed to evaluate the influence of a high concentrated storage medium (SBF) on the properties of sorption, solubility, fluid absorption, bioactivity and pH alkalization capacity of a bioceramic sealer (BioRoot RCS) and a resin-based cement epoxy (AH Plus). 24 samples were made for each sealer tested, which were subsequently randomly divided into 3 experimental groups ($n = 8$). The samples were desiccated for 30 days, weighed and stored in containers containing 5ml of distilled water, PBS or SBF. The pH readings and weighings were performed after 24 hours, 48 hours, 7, 30, 60 and 90 days. To analyze the formation of precipitates, 2 specimens from each group were selected and taken for observation using scanning electron microscopy (SEM) and composition reading by dispersive energy spectroscopy (EDS). The data of sorption / solubility / fluid absorption were found in Two-Way Analysis of Variance (Solution vs. Cement) and Holm-Sidak test ($\alpha = 0.05$) for contrast medium. An analysis of pH, SEM and EDS, were performed descriptively. The AH Plus was not influenced by the storage solution, for all evaluated properties ($p > 0.05$). BioRoot presents greater solubility when immersed in SBF, followed by water and PBS, which are not differentiating between themselves. There was formation of precipitates on the surface of the BioRoot sample only in PBS and SBF. AH Plus maintained a neutral pH, while BioRoot was able to alkalize the medium. Therefore, the storage medium influenced by physical-chemical properties and the bioactive potential of bioceramic sealer. However, conventional tests of sorption, solubility and fluid absorption performed in distilled water should not be

indicated for bioceramic sealers, since they do not present evidence on *in vivo* behavior and still mask their bioactivity, which is the main differential material.

Key words:.. endodontic sealer, storage medium, physicochemical properties, bioactivity.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2.CAPÍTULO I.....	19
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
<i>Cimentos endodônticos.....</i>	23
<i>Soluções de armazenamento.....</i>	24
<i>Delineamento experimental.....</i>	25
<i>Sorção, solubilidade e fluid uptake.....</i>	26
<i>Capacidade alcalinizante (pH).....</i>	26
<i>Bioatividade.....</i>	27
<i>Análise estatística.....</i>	27
RESULTADOS	28
<i>Solubilidade.....</i>	28
<i>Sorção.....</i>	28
<i>Fluid uptake.....</i>	28
<i>Capacidade alcalinizante (pH).....</i>	32
<i>Bioatividade.....</i>	32
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS	41
3.CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICES	50
ANEXO A – Normas do Periódico Brazilian Dental Journal	50

1. INTRODUÇÃO

Os vidros bioativos foram desenvolvidos por Hench na década de 1960, devido a necessidade por um material que pudesse interagir com tecido vivos (HENCH, 2006). Segundo Williams (2008), um material bioativo é aquele que foi projetado para induzir uma atividade biológica específica. Sendo assim, um material bioativo utilizado para reparos ósseos, por exemplo, precisa ter a capacidade de aderir ao osso através da formação de uma camada de apatita na sua superfície, quando em contato com o tecido vivo (JONES, 2013)

A bioatividade de um vidro normalmente é medida através da taxa de crescimento de precipitados precursores de uma camada de hidroxiapatita (Ha) que se forma em sua superfície, tanto *in vitro* quanto em *in vivo* (BAINO, 2018). Por muitos anos os vidros bioativos estiveram restritos a medicina, porém, atualmente vêm sendo incorporados em diversos campos da Odontologia: para cobertura de parafusos em implantes dentários (ALTOMARE et al., 2011), em cimentos de ionômero de vidro para aumentar a liberação de íons Ca/P (VALANEZHAD et al., 2016), em pastas para o tratamento da hipersensibilidade dentinária (GILLAM et al., 2002), no desenvolvimento de sistemas adesivos para aumentar a longevidade clínica das restaurações (BAUER et al., 2016; CARNEIRO et al., 2016; SAURO et al., 2012), guta perchas bioativas (CARVALHO et al., 2015) e em cimentos endodônticos buscando melhorar as propriedades biológicas que os cimentos convencionais não apresentam.

O AH Plus (Dentsply, Konstanz, Germany) é um cimento endodôntico à base de resina epóxi considerado padrão ouro devido as suas excelentes propriedades físico-químicas e comprovado sucesso clínico (FLORES et al., 2011; VERTUAN et al., 2018; ZHOU et al., 2013). Entretanto, apresenta moderada citotoxicidade durante o processo de presa (CINTRA et al., 2017) e a ausência de bioatividade (DONNERMEYER; DAMMASCHKE; SCHAFER, 2020; GIACOMINO et al., 2019a).

Dessa forma, inúmeros cimentos endodônticos com adição de vidros bioativos foram lançados no mercado nos últimos anos, classificados como cimentos biocerâmicos. O termo biocerâmico refere-se à combinação de silicato de cálcio e fosfato de cálcio aplicável para uso biomédico ou odontológico (CANDEIRO et al., 2016; KOCH; BRAVE, 2009). Os cimentos biocerâmicos foram introduzidos na endodontia como cimentos reparadores (DAMAS et al.,

2011; LEAL et al., 2011) e obturadores do canal radicular (KOCH; BRAVE, 2009; LOUSHINE et al., 2011). E podem apresentar composição: partículas de zircônia, alumina, vidros bioativos, silicato de cálcio, hidroxiapatita e fosfato de cálcio reabsorvível e carregam esse nome em função da sua interação com os tecidos circundantes (DONNERMEYER et al., 2018).

O agregado de trióxido mineral (MTA) foi o primeiro material biocerâmico introduzido na endodontia como cimento reparador, indicado em casos de perfuração radicular e para confecção de *plug* apical em dentes com ápices abertos (TORABINEJAD; PARIROKH; DUMMER, 2018), sendo reconhecido por sua superior biocompatibilidade, capacidade de selamento e estimulação de crescimento tecidual (PARIROKH; TORABINEJAD, 2010; ZHANG; LI; PENG, 2010). Estudos mostraram que o MTA foi capaz de induzir a regeneração dos tecidos do ligamento periodontal, a aposição de um material semelhante ao cimento e formação osséa (PÉREZ et al., 2003). No entanto, algumas desvantagens, como longo tempo de presa, dificuldades de manipulação, descoloração dental e alto custo, tornam o uso do MTA, como cimento endodôntico obturador, inviável (TORABINEJAD; PARIROKH; DUMMER, 2018)

Para superar alguns dos problemas associados ao MTA convencional e aos demais cimentos endodônticos disponíveis no mercado, foram desenvolvidos uma série de cimentos endodônticos biocerâmicos para obturação de canais radiculares. Estudos mostram que esses materiais possuem características semelhantes ao MTA, mas sem suas deficiências. Apresentam vantagens como pH alcalino, atividade antibacteriana, fluidez, estabilidade dimensional, radiopacidade, e biocompatibilidade (CANDEIRO et al., 2012, 2016; LOUSHINE et al., 2011; SILVA ALMEIDA et al., 2017; ZHANG et al., 2009)

O potencial mineralizador dos cimentos biocerâmicos já foi comprovado em diversos estudos e, com certeza, é o grande diferencial desses materiais em relação aos cimentos convencionais (CANDEIRO et al., 2012; JAFARI; JAFARI; ETESAMNIA, 2017; SALLES et al., 2012). São capazes de modular os tecidos apicais através do contato direto, nos casos de extrusão, ou indiretamente por difusão, devido a presença dos vidros bioativos, que estimulam a reparação tecidual na presença de fluidos corporais (GIACOMINO et al., 2019b).

Estudos mostram que o cimento biocerâmico MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil) induz a mineralização e exibe bioatividade estimulando a nucleação de hidroxiapatita

(SALLES et al., 2012). Han e Okiji (2013), demonstraram que o BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA), bem como ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA) e Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, France), liberaram íons Ca^{2+} , que formam uma superfície de precipitados rica em Ca^{2+} e P, após 90 dias de imersão em solução de fosfato salina (PBS), indicando a presença de bioatividade. Além disso, a alta liberação de Ca^{2+} também favorece a alcalinização do pH, levando a efeitos bioquímicos que podem culminar na aceleração do processo de reparo (PARIROKH; TORABINEJAD, 2010).

Entretanto, alguns estudos apontam que os cimentos endodônticos biocerâmicos possuem uma solubilidade que excede os padrões exigidos (BORGES et al., 2012; MENDES et al., 2018; ZORDAN-BRONZEL et al., 2019), o que pode comprometer o desempenho clínico do material. A alta solubilidade é uma característica indesejável para cimentos endodônticos, já que a dissolução do material pode permitir a liberação de componentes químicos para os tecidos periapicais, e a formação de “GAPs” na camada entre o cimento e as paredes de dentina do canal radicular, aumentando a probabilidade de infiltração bacteriana (BORGES et al., 2012).

Além disso, A International Standard Organization (ISO) na norma 6876/2012 determina que os testes de sorção e solubilidade para cimentos endodônticos devem ser realizados em água destilada, e que a perda de massa desses materiais não deve exceder 3% (International Standard Organization, 2012). Entretanto, estudos tem criticado a utilização de água destilada como solução de armazenamento, uma vez que esta não representa um ambiente próximo aquele em que os cimentos endodônticos serão expostos (PRÜLLAGE et al., 2016; TORRES et al., 2020; URBAN et al., 2018)

Sendo assim, alguns autores têm realizado modificações nos testes de sorção e solubilidade, sendo a água destilada substituída por solução de fosfato salina (PBS). O PBS, trata-se de uma solução tampão comumente utilizada com a finalidade de manter um valor de pH praticamente constante tendo a concentração salina similar à do corpo humano. É composto por cloreto de sódio (NaCl), fosfato de sódio (NaHPO_4), fosfato de sódio monobásico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O}$) e possui pH estabelecido entre 7,0 e 7,4.

ZHOU et al. (2013), ao comparar a solubilidade de cimentos biocerâmicos aos convencionais, concluíram que os biocerâmicos, EndoSequence BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA) e o MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil), apresentam valores de

solubilidade superiores aos cimentos a base de resina epóxi e óxido de zinco e eugenol, AH Plus e Pulp Canal Sealer, respectivamente. No referente estudo, foram confeccionados seis corpos de prova para cada cimento testado e a solubilidade foi mensurada através da perda de massa que os corpos de prova sofriam, após imersão em água destilada por 24 horas.

ZORDAN-BRONZEL et. al (2019), compararam a solubilidade de dois cimentos à base de silicato de cálcio, Bio-C Sealer (Angelus, Londrina, PR, Brasil) e TotalFill BC (FKG Dentaire, La Chaux-de-Fonds, Switzerland), ao padrão ouro, AH Plus, por meio da confecção de seis corpos de prova para cada grupo estudado, sendo estes, armazenados em água destilada durante 30 dias. Os corpos de prova eram pesados em balança de precisão antes e após a imersão. Os autores concluíram que apenas o AH Plus apresentou uma solubilidade em conformidade com a ISO 6876/2012, os demais apresentaram solubilidade superior ao que é desejável, podendo interferir na qualidade do selamento.

Contudo, ao comparar a solubilidade de dois cimentos biocerâmicos, MTA Fillapex e BioRoot RCS (Septodont, St Maur-des-Fosses, France), ao AH Plus, quando imersos em água destilada e PBS durante 6 meses, URBAN et. al (2018), observaram que os cimentos biocerâmicos foram significativamente mais solúveis em água destilada do que em PBS. Resultados semelhantes foram encontrados por PRÜLLAGE et al. (2016), ao comparar os mesmos materiais imersos em água destilada e PBS durante 28 dias. Além disso, quando armazenados em PBS, uma camada de cristais de hidroxiapatita foi observada sobre os corpos de prova dos cimentos biocerâmicos, confirmando o potencial bioativo desses materiais.

O armazenamento em PBS mostra uma significativa redução da solubilidade quando comparado com a água destilada (TORRES et al. 2020, PRÜLLAGE et al., 2016; URBAN et al., 2018). Especula-se portanto, que a menor solubilidade dos biocerâmicos em PBS seja justificada pelo seu potencial bioativo que resulta na precipitação de uma camada de hidroxiapatita de cálcio, sendo esta capaz de preencher os espaços vazios gerados pela solubilidade (URBAN et al., 2018).

O PBS também tem sido utilizado como solução de armazenamento em trabalhos que avaliaram propriedades como push-out (CECHELLA et al., 2015; DONNERMEYER et al., 2019) e bioatividade (GANDOLFI et al., 2010; HAN; OKIJI, 2013) de cimentos biocerâmicos. Concluindo que o meio de imersão tem impacto significativo sobre o comportamento dos cimentos biocerâmicos.

Contudo, o meio de armazenamento descrito na literatura como o ideal para prever a bioatividade de um material, é o fluido corporal simulado (SBF). A bioatividade *in vivo* de um material deve ser prevista avaliando a formação de uma camada de apatita quando este é imerso em uma solução supersaturada, com concentração iônica semelhante ao plasma sanguíneo humano (SBF). O SBF possui em sua composição cloreto de sódio (NaCl), hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO₃), cloreto de potássio (KCl), hidrogenofosfato dipotássico tri-hidratado (K₂HPO₄·3H₂O), hexa-hidrato de cloreto de magnésio (MgCl₂·6H₂O), cloreto de cálcio (CaCl₂), sulfato de sódio (Na₂SO₄), Tris-hidroximetil aminometano: ((HOCH₂)₃CNH₂) e ácido clorídrico (HCl) (KOKUBO; TAKADAMA, 2006).

Não há na literatura estudos que utilizam o SBF como solução de armazenamento. Considerando que o potencial bioativo dos cimentos biocerâmicos pode interferir na sua solubilidade, e que a solução de SBF é o meio mais indicado para prever bioatividade *in vivo*, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência da solução de armazenamento (água, PBS e SBF), sobre a sorção, solubilidade, fluid uptake, bioatividade e capacidade de alcalinização do pH de um cimento biocerâmico, BioRoot RCS (Septodont, St Maur-des-Fosses, France), em comparação a um cimento convencional à base de resina epóxi, AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Germany).

2. CAPÍTULO I

Influência do meio de armazenamento sobre as propriedades físico químicas e bioatividade de cimentos endodônticos

Artigo formatado conforme normas do periódico *Brazilian Dental Journal*

Short title: Cimentos biocerâmicos em água, PBS e SBF.

Thais Gomes de Moraes Meneses^a;

Edilausson Moreno Carvalho^b

José Bauer*;

^a Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brazil.

Corresponding author: Jose Bauer, (UFMA), Universidade Federal do Maranhão, Disciplina de Materiais Dentários, Rua dos Portugueses, 1966, Campus Universitário do Bacanga, Telefone: +55 (98) 3272-9541, CEP: 65080-805, São Luis - MA, e-mail: bauer@ufma.br

RESUMO: Este trabalho avaliou a influência da solução de armazenamento (água, PBS e SBF), sobre a sorção, solubilidade, fluid uptake, bioatividade e capacidade de alcalinização do pH de um cimento biocerâmico, BioRoot RCS, e um cimento à base de resina epóxi, AH Plus. Foram confeccionados 24 corpos de prova para cada cimento testado, que posteriormente foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais (n=8). Os corpos foram dessecados por 30 dias, pesados e armazenados em recipientes contendo 5ml de água destilada, PBS ou SBF. As leituras de pH e as pesagens foram realizadas após 24 horas, 48 horas, 7, 30, 60 e 90 dias. Para análise em MEV e EDX, 2 corpos de cada grupo foram selecionados. Os dados de sorção/solubilidade/fluid uptake foram submetidos a Análise de Variância Two-Way (*Solução vs. Cimento*) e teste Holm-Sidak ($\alpha=0.05$) para contraste de média. A análise de pH, MEV e EDS, foram realizadas de forma descritiva. O AH Plus não sofreu influência da solução de armazenamento, para todas as propriedades avaliadas ($p>0,05$). O BioRoot apresentou maior solubilidade quando imerso em SBF, seguido da água e PBS, que não apresentaram diferenças significativas entre si, entretanto, em PBS e SBF houve formação de precipitados na superfície da amostra. O AH Plus manteve o pH neutro, enquanto o BioRoot alcalinizou o meio. Portanto, o meio de armazenamento influenciou as propriedades físico-químicas e o potencial bioativo de cimentos biocerâmicos. Porém, testes convencionais de sorção, solubilidade e fluid uptake realizados em água destilada não devem ser indicados para avaliar cimentos biocerâmicos.

Palavras – chave: cimento endodôntico, meio de armazenamento, propriedades físico-químicas, bioatividade.

INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem como objetivo principal a eliminação de microrganismos patogênicos do sistema de canais radiculares, por meio do preparo químico-mecânico e de um selamento coronário e apical satisfatórios (1,2). Os cimentos endodônticos desempenham um papel fundamental no processo de obturação dos canais radiculares, devido a sua capacidade de preencher áreas de difícil acesso como ramificações, deltas apicais e canais acessórios (3), servindo como barreira contra entrada de novos microorganismos provenientes da cavidade oral ou dos tecidos perirradiculares (4,5).

Recentemente, uma nova onda de cimento endodônticos tem surgido no mercado. Vidros bioativos estão sendo atualmente incorporados aos cimentos endodônticos devido a sua capacidade de induzir a formação de uma camada de hidroxiapatita e possibilitar a remineralização dentinária em razão da alta liberação iônica (6–8). Estudos mostram que cimentos de uso endodôntico à base de vidros bioativos, conhecidos como cimentos biocerâmicos tem propriedades interessantes como: não sofrem contração volumétrica, apresentam alta liberação iônica, induzem a alcalinização do pH, apresentam atividade antibacteriana e são biocompatíveis (8–10). Por outro lado, inúmeros estudos mostram que os cimentos endodônticos biocerâmicos, quando imersos em meio aquoso, apresentam alta solubilidade mesmo após a presa (11,12).

Os cimentos endodônticos estão em contato constante com fluidos corporais presentes no interior dos túbulos dentinários e provenientes da região periapical. Sendo assim, uma alta solubilidade é indesejável para esses materiais, já que a degradação (ou dissolução) dos cimentos pode comprometer a qualidade do selamento, facilitando a infiltração de novos microorganismos (13,14).

Por outro lado, essa degradação dos cimentos biocerâmicos podem atuar como modulador dos tecidos apicais através do contato direto, nos casos de extrusão, ou indiretamente, por difusão, devido a presença de compostos como vidros bioativos, que estimulam a reparação tecidual na presença de fluidos corporais (15). O potencial mineralizador desses cimentos já foi comprovado em diversos estudos e é o grande diferencial desses materiais em relação aos cimentos convencionais (8,16,17).

De acordo com a ISO 6876/2012 (18), um cimento endodôntico não deve exceder 3% de perda de massa, após ser imerso em água destilada. Entretanto, uma crítica feita a esta metodologia, se baseia no fato de o meio aquoso não representar o ambiente próximo ao que

de fato os cimentos endodônticos serão expostos. Sendo assim, alguns autores têm realizado modificações no teste de solubilidade, sendo a água destilada substituída por solução de fosfato salina (PBS). Os resultados desses estudos mostram que os cimentos biocerâmicos são menos solúveis quando armazenados em PBS, em comparação com a armazenagem em água destilada (19–21).

Além disso, a imersão de cimentos biocerâmicos em PBS levou a precipitação superficial de hidroxiapatita, evidenciando a bioatividade desses materiais (19,20). Especula-se, portanto, que a menor solubilidade dos biocerâmicos em PBS seja justificada pela deposição de uma camada de hidroxiapatita que preenche os espaços vazios gerados pela solubilidade, ou seja, que potencial bioativo influenciou a solubilidade desses materiais (19).

Entretanto, Kokubo e Takadama (22), sugerem que a bioatividade *in vivo* de um material deve ser avaliada quando este é imerso em uma solução supersaturada, com concentração iônica semelhante ao plasma sanguíneo (SBF). A solução de SBF poderia, portanto, interferir na solubilidade de cimentos biocerâmicos, já que estes estariam em meio mais propício a bioatividade.

Considerando que o potencial bioativo dos cimentos biocerâmicos pode interferir na sua solubilidade, quando imerso em meio propício, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência da solução de armazenamento (água, PBS e SBF), sobre a sorção, solubilidade, fluid uptake, bioatividade e capacidade de alcalinização do pH de um cimento biocerâmico, BioRoot RCS (Septodont, St Maur-des-Fosses, France), e um cimento convencional à base de resina epóxi, AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Germany).

A hipótese nula é que a solução de armazenamento não tem influência sobre a sorção, solubilidade, fluid uptake, bioatividade e capacidade de alcalinização do pH de cimentos endodônticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Cimentos endodônticos

Foram utilizados dois cimentos endodônticos no presente estudo: um cimento biocerâmico à base de silicato de cálcio, BioRoot RCS e um à base de resina epóxi, AH Plus. Os cimentos endodônticos utilizados e seus respectivos fabricantes, lotes, composição, apresentação e forma de manipulação estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Fabricante, lote, composição e a apresentação dos cimentos endodônticos utilizados.

Material (Fabricante) (Lote)	Composição	Apresentação/Manipulação
BioRoot RCS (Septodont, St Maur-des-Fosses, France) (B23970)	Silicato tricálcico, óxido de zircônio, água, cloreto de cálcio, polímero solúvel em água.	Pó/líquido Proporção de uma colher medidora de pó para 5 gotas de líquido, manipulados em placa de vidro, durante 1 min.
AH Plus (Dentsply De Trey, Konstanz, Germany) (364801L)	Pasta A: éter de bisfenol A, diglicidil, tungsteanato de cálcio, óxido de zircônio, aerosil e óxido de ferro. Pasta B: amina adamantana, n-dibenzil-5-oxanonano-diamina, tungsteanato de cálcio, óxido de zircônio e óleo de silicone.	Pasta base e pasta catalisadora foram dispersadas em uma placa de vidro em uma proporção de 1:1 até obter uma pasta homogênea.

Soluções de armazenamento

Foram utilizadas três soluções de armazenamento: a água destilada, PBS e o SBF. Sendo a água destilada o meio de armazenamento recomendado pela ISO 6876/2012.

O PBS utilizado foi adquirido de forma comercial (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil). E o SBF foi manipulado em laboratório seguindo a metodologia descrita por Kokubo e Takadama (22). A composição de ambas as soluções está descrita na Tabela 2.

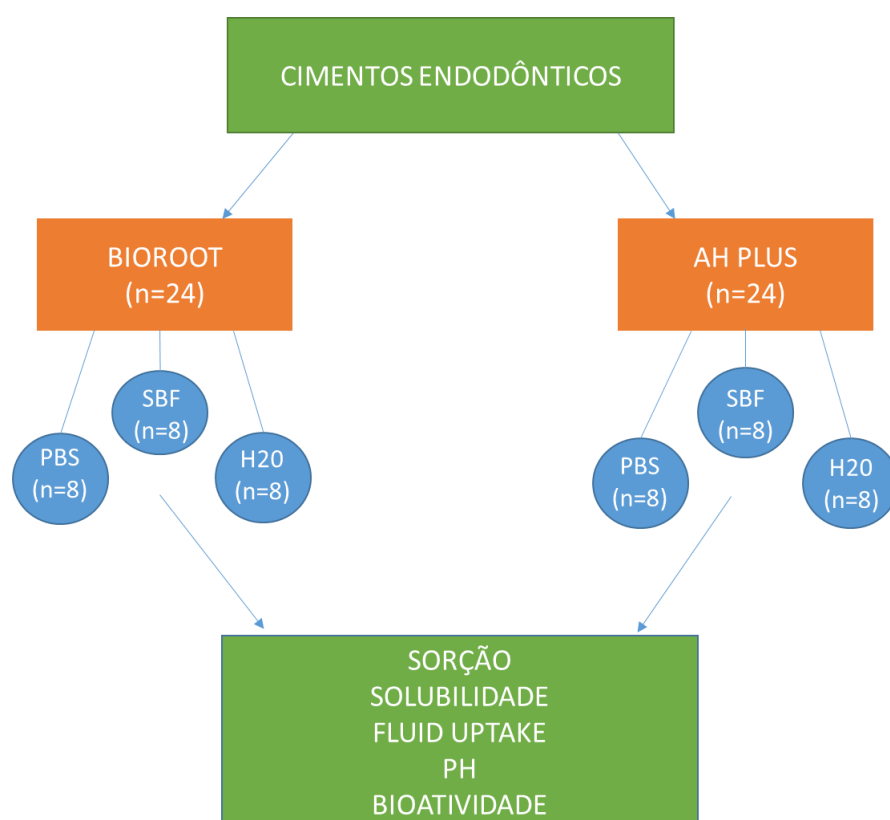
Tabela 2 – Composição das soluções de armazenamento PBS e SBF.

Solução	Composição
PBS	Cloreto de sódio (NaCl), fosfato de sódio (NaHPO), fosfato de sódio monobásico (NaH ₂ PO ₄ + H ₂ O) e cloreto de magnésio (MgCl ₂)
SBF	Cloreto de sódio (NaCl), hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO ₃), cloreto de potássio (KCl), hidrogenofosfato di-potássico tri-hidratado (K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O), hexa-hidrato de cloreto de magnésio (MgCl ₂ .6H ₂ O), cloreto de cálcio (CaCl ₂), sulfato de sódio (Na ₂ SO ₄), Tris-hidroximetil aminometano: ((HOCH ₂) ₃ CNH ₂) e ácido clorídrico (HCl)

Delineamento experimental

Os cimentos foram manipulados de acordo com as recomendações dos fabricantes. Foram confeccionados 24 corpos de prova para cada cimento testado, que posteriormente foram divididos aleatoriamente em 3 grupos experimentais (n=8). O delineamento do trabalho está descrito na Figura 1.

Figura 1- Delineamento experimental do estudo.



Para confecção dos corpos de prova, foi utilizada uma matriz metálica circular bipartida, com dimensões de 1mm de espessura por 10mm de diâmetro. A matriz foi colocada sobre uma placa de vidro envolta com papel celofane, o material inserido na matriz com auxílio de uma espátula de inserção, e uma segunda placa de vidro com papel celofane foi colocada sobre a matriz para que esta fosse preenchida de maneira uniforme.

Em seguida os corpos de prova foram armazenados em ambiente à 37°C e 95% de umidade, durante 7 dias, para a presa final dos cimentos (23–25). Após aguardar a presa final do material, os corpos de prova foram removidos da matriz e levados a um dessecador por 30

dias. Os espécimes foram pesados em uma balança de precisão de 0,0001g (Ohaus Corporation, New Jersey, NJ, EUA).

Sorção, solubilidade e fluid uptake

Após a presa e a estabilização da massa, os corpos de prova foram pesados em uma balança analítica de precisão para obtenção do peso inicial (M1), em seguida os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos experimentais. As amostras foram imersas separadamente em recipientes plásticos cilíndricos, contendo 5 mL de água destilada, PBS ou SBF, em seguida levados à estufa e mantidos à temperatura de 37 °C.

Os corpos de prova foram pesados novamente após 24 horas, 48 horas, 7, 30, 60 e 90 dias (M2). A cada pesagem as amostras foram retiradas das soluções, secas com o auxílio de lenço de papel absorvente, pesadas e colocadas em um recipiente com uma nova solução. Após 90 dias, as amostras foram mantidas em dessecador por 30 dias e em seguida foram pesadas para obtenção do peso final (M3). A diferença entre o peso inicial do material e seu peso final (M1 – M3) foram registrados para o valor mais próximo de 0,0001 g. A diferença de massa foi calculada como uma porcentagem do peso original do material, registrado no valor mais próximo 0,001% (18,19,26).

O volume (V) do corpo de prova foi obtido através da fórmula $V=\pi.R^2.A$ (onde R=Raio e A=Altura). O volume foi estabelecido como uma constante para todas as amostras. Os valores para sorção e solubilidade expressos em $\mu g.mm^3$ (micrograma por milímetro cúbico), foram calculados por meio da equação numérica: Sorção= $M2 - M3 / V$ e Solubilidade= $M1 - M3/V$ (27)

Fluid uptake se baseia nas mudanças de peso que ocorrem nos intervalos de 24 horas, 48 horas, 7, 30, 60 e 90 dias, em relação a massa inicial de cada corpo de prova. Essa diferença é calculada através da equação: Fluid uptake = $M2 - M1/V$ (27).

Capacidade alcalinizante (pH)

O pH inicial de cada solução foi mensurado utilizando eletrodo específico de pH (Quimis, Diadema, SP, Brasil). As posteriores leituras de pH foram realizadas em paralelo ao teste de solubilidade, após 24 e 48 horas, 7, 30, 60 e 90 dias de imersão. A cada leitura, o eletrodo era lavado com água deionizada e seco com papel absorvente. Os corpos de prova eram imersos em nova solução após cada leitura.

Bioatividade

Após a execução dos ensaios de sorção, solubilidade, fluid uptake e pH, duas amostras de cada grupo experimental foram selecionadas para avaliação da bioatividade. As amostras dessecadas foram levadas para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV - TM3030, Hitachi, Japão), para verificar a formação de precipitados minerais. Como controle, utilizamos corpos que não foram imersos em nenhuma solução. Imagens com várias ampliações foram realizadas para identificar a formação de precipitados na superfície do cimento. A espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foi utilizada para a determinação dos elementos constituintes dos precipitados formados.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* SigmaPlot (SigmaPlot v. 13.0, Systat Software Inc., San Jose, USA). Os dados de sorção/solubilidade/fluid uptake foram submetidos a Análise de Variância Two-Way (Solução vs. Cimento) e teste Holm-Sidak ($\alpha=0.05$) para contraste de média. A análise de pH, MEV e EDS foram analisadas de forma descritiva.

RESULTADOS

Solubilidade

A análise estatística apresentou uma interação entre os fatores principais ($p < 0,001$). É possível observar uma maior solubilidade do cimento BioRoot, quando imerso em SBF ($p < 0,001$). Em água e PBS, os valores de solubilidade encontrados foram similares ($p = 0,053$) e inferiores ao SBF. A solução de armazenamento não teve influência sobre a solubilidade do AH Plus ($p > 0,05$), independente do meio de armazenamento (Tabela 3).

Sorção

A análise estatística apresentou uma interação entre os fatores principais ($p < 0,001$). A solução de armazenamento não influenciou estatisticamente os valores de sorção do cimento AH Plus ($p > 0,05$). O cimento BioRoot apresentou os maiores valores de sorção quando imerso em PBS, seguido do SBF e água ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Fluid uptake

Nas Figuras 2 e 3 está a representação gráfica dos valores de Fluid uptake para AH Plus e BioRoot nos diferentes períodos (24 hrs, 48 hrs, 7, 30, 60 e 90 dias) e meios (água, PBS e SBF) testados.

A análise estatística apresentou uma interação entre os fatores principais ($p < 0,01$). A solução de armazenamento não influenciou estatisticamente os valores de fluid uptake do cimento AH Plus ($p > 0,05$), o material se comportou de forma semelhante, independente do meio em que foi imerso. O cimento BioRoot apresentou os maiores valores de fluid uptake quando imerso em PBS, seguido da água e SBF ($p < 0,05$). Quando imerso em água e SBF, o BioRoot RCS se comportou de forma semelhante, apresentando valores negativos ao final de 90 dias (Tabela 3).

Figura 2 – Análise de Fluid uptake (%) para o cimento AH Plus

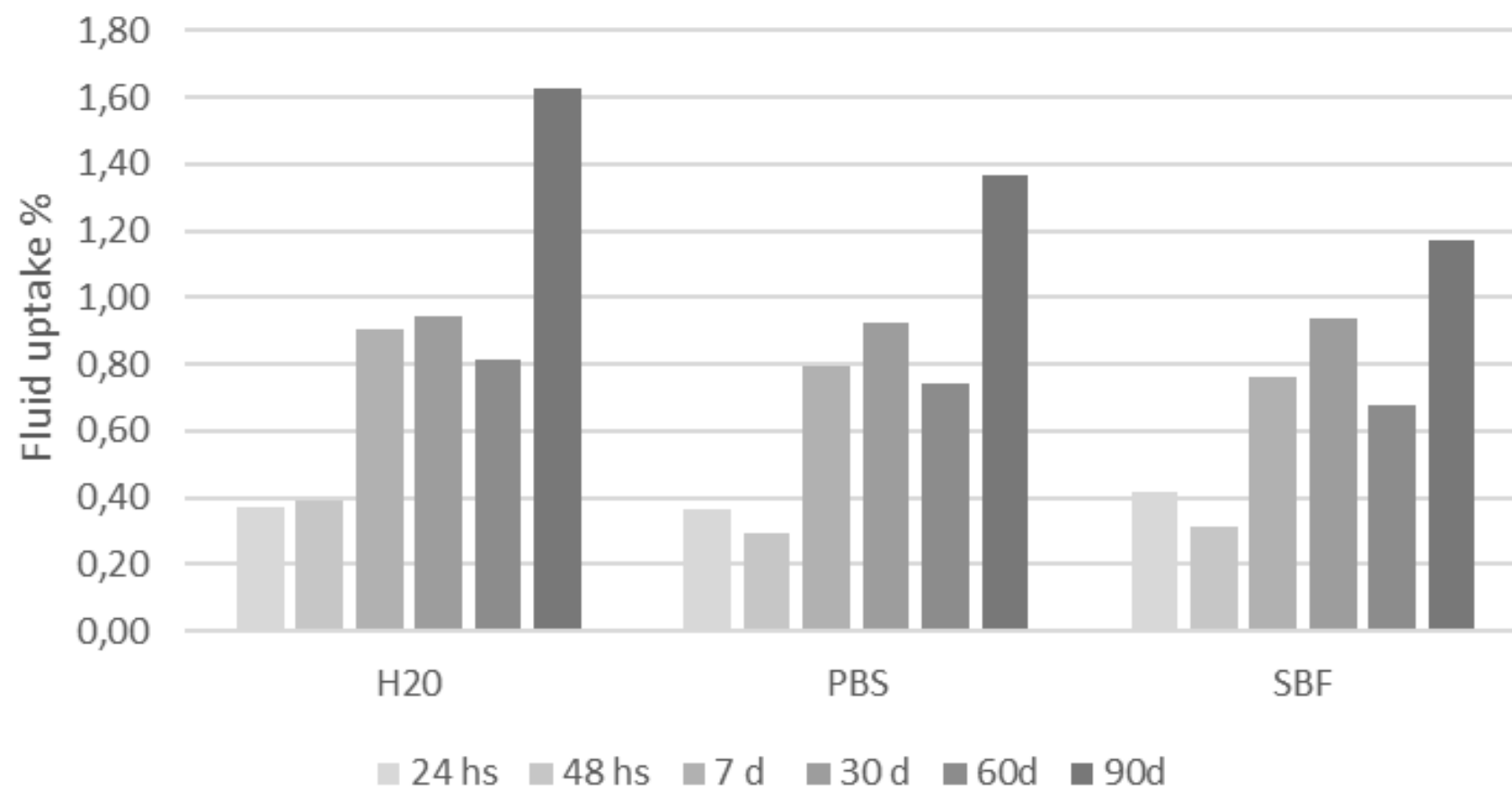


Figura 3 – Análise de Fluid uptake (%) para o cimento BioRoot

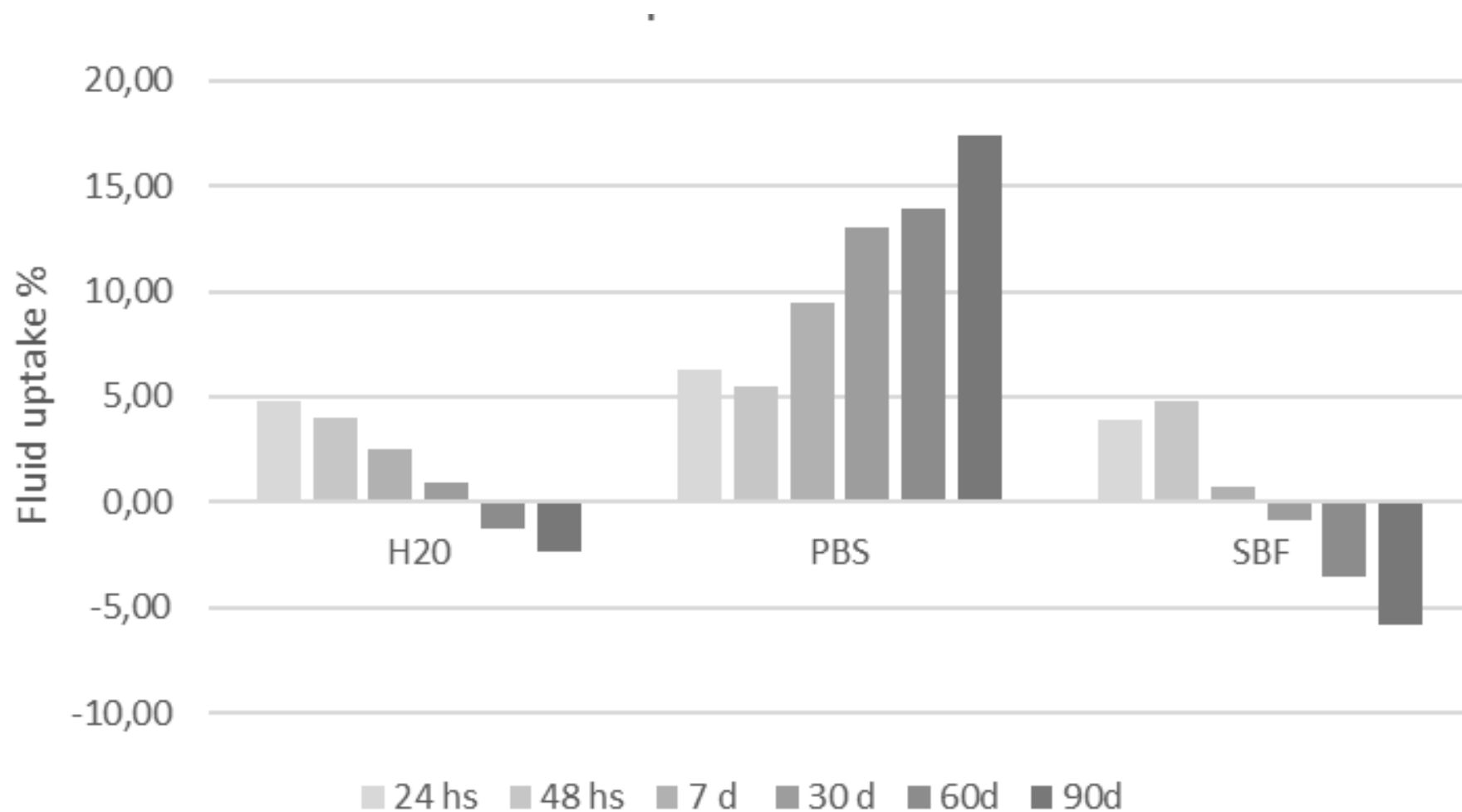


Tabela 3 – Resultados de sorção, solubilidade e fluid uptake expressos em valores absolutos ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) e porcentagem (%).

	Sorção				Solubilidade				Fluid uptake			
	AH Plus		BioRoot		AH Plus		BioRoot		AH Plus		BioRoot	
	($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	(%)	($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	(%)	($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	(%)	($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	(%)	($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	(%)	($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	(%)
H2O	39,01 $\pm$ 20,70 Ab	1,48	462,58 $\pm$ 39,86 Ca	17,55	-3,66 $\pm$ 4,29 Ab	-0,15	523,73 $\pm$ 39,86 Ba	19,87	42,68 $\pm$ 19,18 Aa	1,62	-61,15 $\pm$ 14,33 Bb	-2,32
PBS	29,46 $\pm$ 13,01 Ab	1,13	872,29 $\pm$ 81,88 Aa	34,23	-6,85 $\pm$ 3,97 Ab	-0,24	428,18 $\pm$ 81,88 Ba	16,83	36,31 $\pm$ 12,02 Ab	1,36	444,11 $\pm$ 91,82 Aa	17,40
SBF	22,29 $\pm$ 6,50 Ab	0,81	668,15 $\pm$ 24,59 Ba	26,61	-6,84 $\pm$ 2,62 Ab	-0,36	818,63 $\pm$ 24,59 Aa	32,39	24,03 $\pm$ 4,90 Aa	0,96	-193,97 $\pm$ 104,69 Cb	-7,54

Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna representam diferenças significativas para o mesmo selante após a imersão em diferentes soluções ($P < 0,05$). Diferentes letras minúsculas na mesma linha representam diferenças significativas entre diferentes selantes ($P < 0,05$).

Capacidade alcalinizante (pH)

Nas Figuras 4 e 5 está a representação gráfica dos valores do pH para AH Plus e BioRoot nos diferentes períodos (24 hrs, 48 hrs, 7, 30, 60 e 90 dias) e meios (água, PBS e SBF) testados.

O cimento AH Plus apresentou pH em níveis próximos a neutralidade em todos os períodos avaliados e independente da solução de armazenamento.

O cimento BioRoot apresentou pH em níveis alcalinos em todos os períodos de avaliação, independente da solução de armazenamento.

Bioatividade

As análises de precipitados obtidos em microscopia eletrônica de varredura (MEV) estão representadas nas Figuras 6 e 7. A superfície do cimento AH Plus não revelou formação de precipitados após 90 dias, independente da solução de imersão (Figura 6). A análise em EDS apontou para presença dos elementos zircônio (Zr), silício (Si), tungstênio (W) e cálcio (Ca) que estão na composição do material, com a proporção em peso descritos em %.

A análise em MEV do cimento BioRoot imerso em PBS mostrou a formação de um grande volume de precipitados em formatos de agulha e esferas (Figura 7C). Quando imerso em SBF foram observados precipitados em formato esférico na superfície do cimento BioRoot (Figura 7D). Após 90 dias de imersão em água não foi possível observar formação de precipitados (Figura 7B). A análise em EDS apontou para presença cálcio (Ca) e fósforo (P) em altas proporções descritas em %, para os grupos imersos em PBS e SBF.

Figura 4 – Análise de pH AH Plus

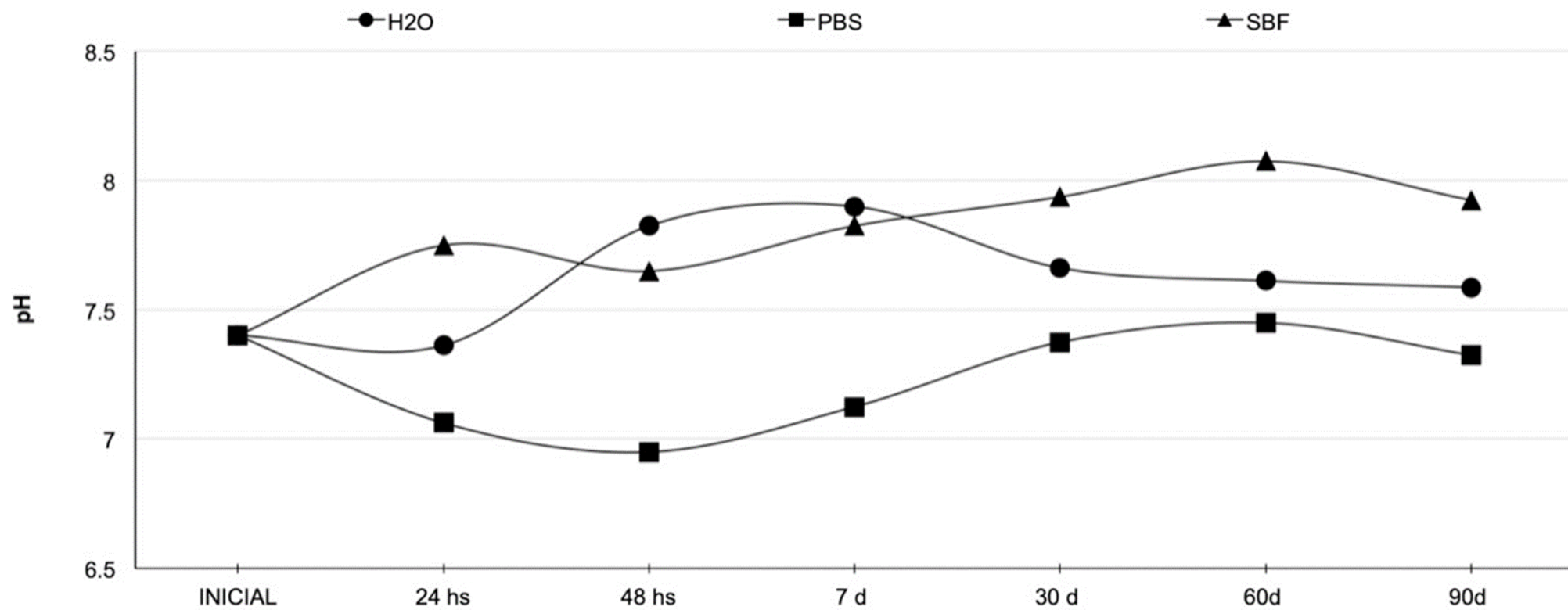
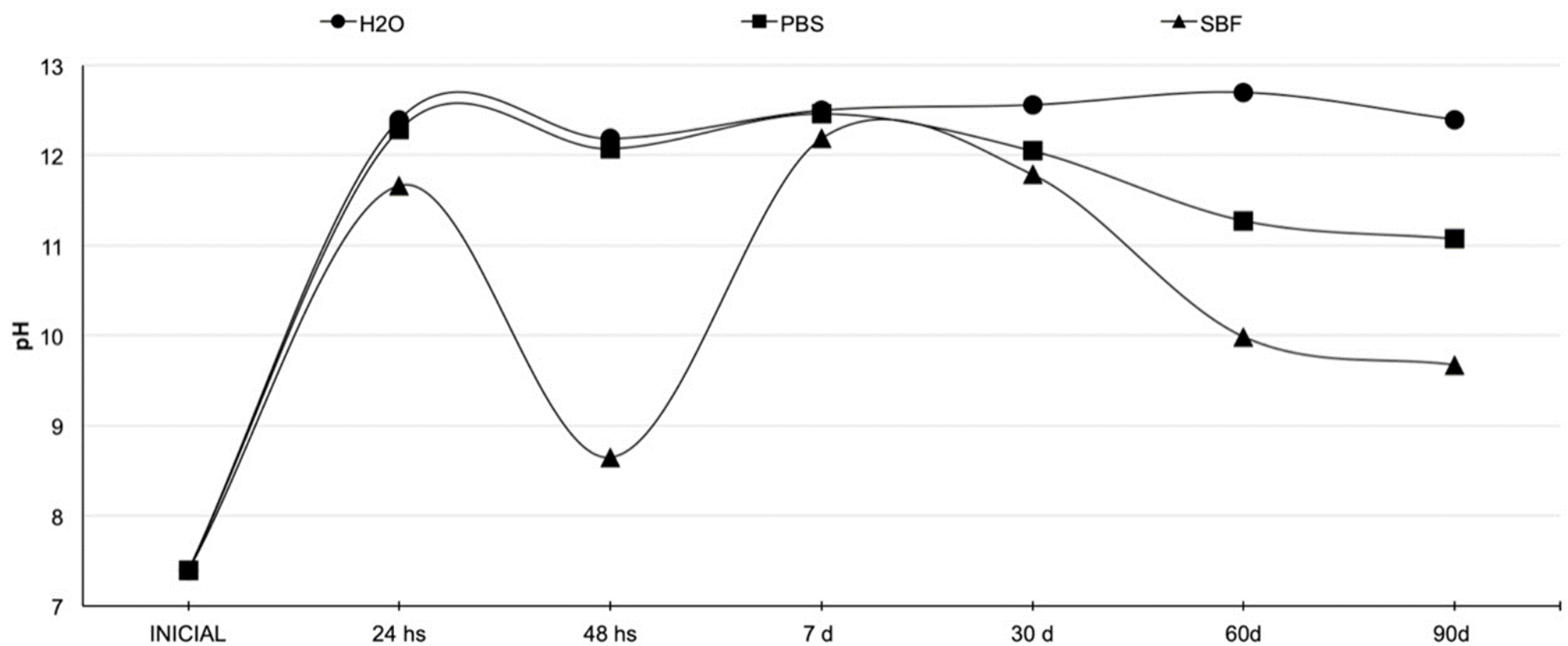


Figura 5 – Análise de pH BioRoot



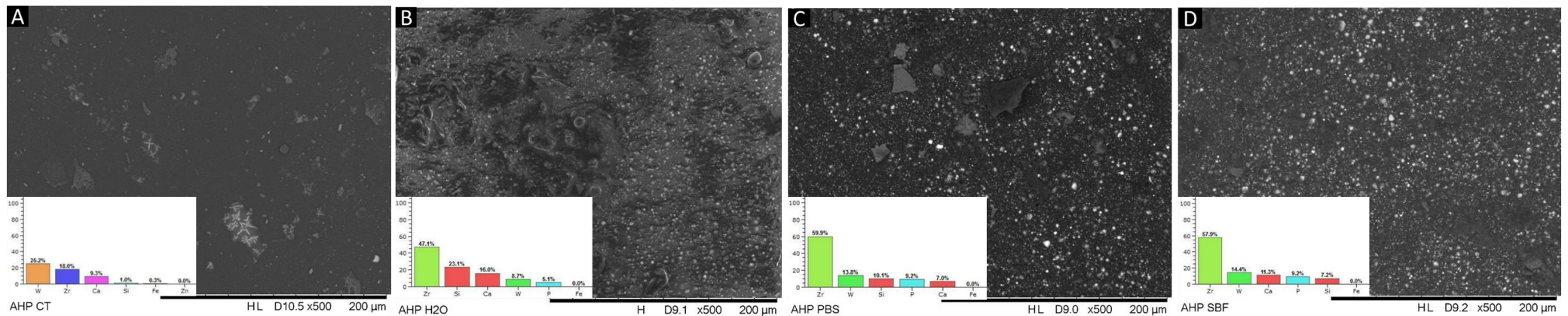


Figura 6 - Imagens em MEV do cimento AH Plus (magnificação: x500, escala: 100 μm); A: AH Plus grupo controle; B: AH Plus após 90 dias de imersão em água destilada; C: AH Plus após 90 dias de imersão em PBS; D: AH Plus após 90 dias de imersão em SBF.

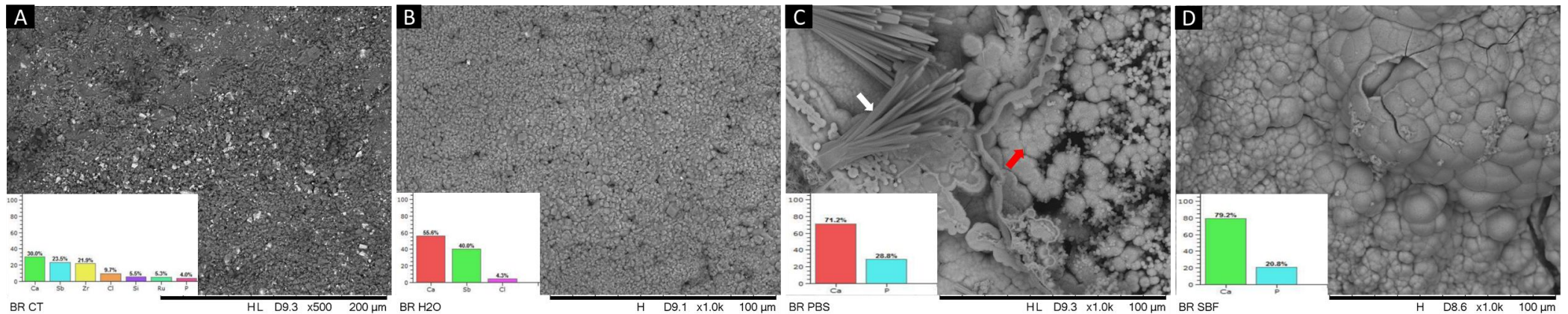


Figura 7 - Imagens em MEV do cimento BioRoot (magnificação: x1000, escala: 100 μm); A: BioRoot grupo controle; B: BioRoot após 90 dias de imersão em água destilada; C: BioRoot após 90 dias de imersão em PBS; D: BioRoot após 90 dias de imersão em SBF. Seta branca: precipitados em forma de agulha. Seta vermelha: precipitados em formato esférico.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a influência da solução de armazenamento sobre a sorção, solubilidade, fluid uptake, pH e bioatividade de um cimento endodôntico biocerâmico, BioRoot, e um à base de resina epóxi, AH Plus. A hipótese nula foi parcialmente rejeitada, uma vez que os resultados observados mostram que a solução de armazenamento influenciou de forma significativa apenas o cimento BioRoot.

De acordo com a literatura, cimentos endodônticos devem apresentar baixa solubilidade para evitar uma alta dissolução quando em contato com fluidos corporais e, por consequência, levar a falha no selamento e infiltração de novos microorganismos patogênicos (14,19).

A recomendação da ISO 6876/2012, para avaliação da solubilidade de cimentos endodônticos, é baseada na diferença de massa da amostra antes e depois da imersão em água destilada, não excedendo 3% de perda. Porém, o uso de água destilada como solução de armazenamento não expressa a real condição a que esses materiais são expostos *in vivo* (28)

Para fornecer um melhor entendimento do que acontece no contato dos cimentos, em especial os biocerâmicos, com o fluido corporal, alguns estudos propõem o uso do PBS como solução de armazenamento. Os resultados desses trabalhos apontam para a redução da solubilidade quando cimentos biocerâmicos foram imersos em PBS, supondo que ao estimular a bioatividade desses materiais, a formação de precipitados resultaria em uma menor solubilidade (19,20,27)

No presente estudo, além da água destilada e do PBS, também avaliamos o comportamento dos cimentos em fluido corporal simulado (SBF). O SBF contém grandes concentrações de íons fosfato e cálcio, é supersaturado em relação a apatita e pequenas mudanças no pH ou na composição podem causar precipitação (29). Contudo, segundo Kokubo e Takadama (22), a bioatividade óssea *in vivo* de um material pode ser prevista a partir da formação de apatita em sua superfície quando este é imerso em SBF.

Nossos resultados mostram que independente da solução de armazenamento, o AH Plus apresentou os menores valores de sorção e solubilidade. As diferentes condições testadas não influenciaram os resultados do cimento AH Plus para sorção, solubilidade, fluid uptake e pH (13,19,20,26,30,31). Além disso, o AH Plus não apresentou deposição de precipitados em sua superfície para nenhuma das soluções testadas.

Por outro lado, a solução de armazenamento influenciou significativamente o comportamento do cimento BioRoot. Em água destilada, o BioRoot apresentou 19,87% de perda de massa após 90 dias de imersão. Uma pequena redução, porém, sem relevância estatística, ocorreu quando o material foi imerso em PBS, apresentando 16,83% de perda. Em SBF, o cimento BioRoot apresentou valores estatisticamente superiores de solubilidade entre os grupos testados, 32,39% de perda de massa. Percebe-se que, independente do meio, o cimento biocerâmico apresentou solubilidade superior ao padrão exigido pela ISO.

Benezra et. al (21), relatou uma solubilidade de 15,88% para o cimento BioRoot em água destilada, e de 30,2% quando imerso em HBSS (Hank's balanced salt solution; Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA), solução também utilizada para simular fluidos corporais. Esses resultados contrariam a suposição de que os cimentos biocerâmicos seriam menos solúveis em um meio supersaturado que induzisse o seu potencial bioativo (19,20,23)

Segundo Bohner e Lemaitre (32), a adição de um sólido ao SBF pode modificar a composição da solução e, resultar em uma mudança no local de formação dos precipitados. Ou seja, a formação de precipitados pode ocorrer na superfície do espécime ou na própria solução de armazenamento. Além disso, outro fator que pode influenciar o local de precipitação, é utilizar um material solúvel em SBF, que libere uma grande quantidade de íons cálcio e fosfato, como é o caso de cimento BioRoot.

Acreditamos que durante a troca iônica que ocorreu entre o cimento e o SBF, houve um desequilíbrio do meio que levou a uma grande dissolução do material, justificando a alta solubilidade. E que a precipitação possa ter ocorrido não somente na superfície do cimento, como evidenciado após análise em MEV, mas também na solução, seguindo a teoria de mudança de local de supersaturação levantada por Bohner e Lemaitre (32).

É importante destacar, que além de utilizar o SBF como solução de imersão, o nosso trabalho também tem como diferencial o tempo de armazenamento. O período de 90 dias nos permite avaliar se a precipitação esperada para o BioRoot seria estável a longo prazo. Grande parte da literatura revisada realizou testes de sorção e solubilidade por um período de no máximo 30 dias (11,13,20,21,26), apenas um estudo encontrado avaliou o comportamento de cimentos endodônticos após 6 meses de armazenamento (19).

Outro diferencial está no fato de dessecarmos as amostras antes e após a imersão. A dessecação tem um efeito significativo na sorção, solubilidade e fluid uptake de materiais endodônticos biocerâmicos (26,27). De forma predominante nos estudos encontrados, os corpos são dessecados apenas ao final do período de armazenamento, podendo levar a uma

solubilidade superestimada, considerando que a água não incorporada durante a hidratação pode evaporar no dessecador, interferindo assim no resultado observado para a perda de massa real (33).

Observamos que, quando se trata de cimentos biocerâmicos, divergências de resultados podem ser explicadas por variações metodológicas, como tempo de armazenamento, tamanho dos corpos de prova, utilização ou não de dessecadora antes e após a imersão dos corpos nas soluções e, não somente pela solução de armazenamento (19,34). O que não ocorre com o cimento AH Plus, que apresenta resultados semelhantes e estáveis, independente das variações metodológicas existentes na literatura, provavelmente devido a sua composição resinosa (11,13,35).

O resultado de fluid uptake se baseia na diferença entre a massa do corpo de prova após 90 dias de imersão e a sua massa inicial. Quando imerso em água e SBF, o BioRoot apresentou valores de fluid uptake negativos, -2,32% e -5,78%, respectivamente. Valores de fluid uptake negativos representam que o peso do corpo de prova após 90 dias de imersão é inferior ao peso inicial. Ou seja, a dissolução do material no meio foi maior do que a sua capacidade de absorver fluidos. Já em PBS, a massa dos corpos de prova ao final do período avaliado foi em média 17,40% maior que a massa inicial, indicando que a absorção de fluidos e a precipitação na superfície do material foram superiores à sua dissolução.

Metodologias usando imagem de micro-CT tem demonstrado que alta solubilidade não significa necessariamente alterações volumétricas, se tratando de cimentos biocerâmicos (36,37). Torres et al. (31), avaliaram as propriedades físico-químicas de dois cimentos biocerâmicos, TotalFill BC Sealer (FKG Dentine, La Chaux-de-Fonds, Switzerland), e Bio-C Sealer (Angelus, Londrina, PR, Brasil), em comparação com o AH Plus e observaram uma alteração volumétrica abaixo 2% para os biocerâmicos, embora tenham registrado solubilidade acima 10%. Esses resultados podem ser justificados pelo fato desses materiais apresentarem expansão e perda de massa ao mesmo tempo, ou seja, a solubilidade ser compensada pela absorção de fluidos (12). Sendo assim, essa tecnologia pode ser aplicada de forma a complementar a avaliação de materiais à base de silicato de cálcio

A capacidade de alcalização do pH está relacionada a dissolução e liberação iônica dos cimentos. Sendo assim, a elevada solubilidade do BioRoot propicia resultados de pH alcalino. Por outro lado, o AH Plus que apresenta valores de solubilidade negativos independente da solução de armazenamento, mantém o pH próximo a neutralidade em todas as condições testadas. De modo geral, os valores de pH do presente estudo estão de acordo com os dados

fornecidos na literatura recente (11,14,19,20). Um ambiente alcalino durante um longo período de tempo, como apresentado pelo BioRoot RCS, pode ter um efeito positivo na cicatrização apical. Em particular, o pH alcalino do cimento pode aumentar o valor do pH do citoplasma e fluido corporal na região periapical, que pode ter sido reduzido devido o processo inflamatório. Além disso, um pH alcalino tem efeitos antimicrobianos dentro do canal radicular (38), pode evitar dissoluções de componentes mineralizados dos dentes e favorecer a deposição de tecido mineralizado (39,40).

No teste de bioatividade, o AH Plus, que se comportou de forma inerte diante de todas as condições testadas, não apresentou formação de precipitados em sua superfície (Figura 6) corroborando ao que já foi descrito na literatura (28,41).

Por outro lado, apesar dos altos valores de sorção e solubilidade em SBF, as análises em MEV evidenciaram a formação de precipitados em formatos esféricos na superfície do BioRoot após 90 dias de imersão (Figura 7D). O que não ocorre quando este material é imerso em água destilada (Figura 7B). Em PBS, as formações de precipitados na superfície do BioRoot ocorreram de forma mais significativa e variada, sendo encontrados precipitados em forma de agulha e em formato esférico (Figura 7C). A análise em EDS detectou a presença de altas concentrações de Ca e P nos precipitados formados, confirmando o potencial bioativo desses materiais, assim como descrito na literatura (28,41).

Portanto, a alta solubilidade dos cimentos biocerâmicos não pode ser avaliada de forma isolada e nem vista como sua principal desvantagem, já que esta característica é o que justifica a sua capacidade de alcalinização do meio e seu potencial bioativo, contribuindo para o reparo periapical e para a possível formação de um tecido mineralizado na interface cimento/dentina radicular. Sendo essas, as principais vantagens que os biocerâmicos apresentam frente aos demais cimentos endodônticos disponíveis.

4. CONCLUSÃO

A solução de armazenamento influenciou de forma significativa as propriedades físico-químicas e a bioatividade do cimento BioRoot, O AH Plus, entretanto, se manteve praticamente inerte em todas as condições testadas. Independente da solução de armazenamento, o BioRoot apresentou pH alcalino e o AH Plus manteve o pH próximo a neutralidade durante todo o período avaliado. Em PBS e SBF, o BioRoot apresentou formação de precipitados ricos em Ca e P, reafirmando seu potencial bioativo.

Entretanto, testes convencionais de sorção, solubilidade e fluid uptake descritos pela ISO, reproduzidos e modificados inúmeras vezes na literatura, não são apropriados se tratando se cimentos biocerâmicos, já que esses materiais são hidrofílicos e extremamente sensíveis às modificações que ocorrem o meio. Sendo assim, armazenar um cimento biocerâmico em água destilada, como recomendado, não nos traz evidências sobre o seu comportamento *in vivo* e ainda mascara o real diferencial desses materiais, que é a bioatividade.

REFERÊNCIAS

1. Ricucci D, Rôças IN, Alves FRF, Loghin S, Siqueira JF. Apically extruded sealers: fate and influence on treatment outcome. *J Endod*. 2016;42(2):243–9.
2. Rôças IN, Siqueira JF. Identification of bacteria enduring endodontic treatment procedures by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction and reverse-capture checkerboard approach. *J Endod*. 2010;36(1):45–52.
3. Oliveira Sousa T, Haiter-Neto F, Helena E, Nascimento L, Vieira Peroni L, Freitas DQ, et al. Diagnostic accuracy of periapical radiography and cone-beam computed tomography in identifying root canal configuration of human premolars. *J Endod*. 2017;43(7):1176–9.
4. Siqueira Jr J. Aetiology of root canal treatment failure: why well treated teeth can fail. *Int Endod J*. 2001;34(1):1–10.
5. Nair P. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J*. 2006;39(4):249–81.
6. Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. 2019;45(1):51-56
7. Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru JM, Hungaro-Duarte MA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. Chemical characterization and bioactivity of epoxy resin and Portland cement-based sealers with niobium and zirconium oxide radiopacifiers. *Dent Mater*. 2014;30(9):1005–20.
8. Candeiro GTDM, Correia FC, Duarte MAH, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2012;38(6):842–5.
9. 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.
10. Candeiro G, Moura-Netto C, D’Almeida-Couto R, Azambuja-Júnior N, Marques M, Cai S, et al. Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. *Int Endod J*. 2016;49(9):858–64.
11. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod*. 2013;39(10):1281–6.
12. Silva Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG. Are Premixed Calcium

- Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. *J Endod.* 2017;43(4):527–35.
13. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Júnior FA, De-Deus G, Miranda CES, et al. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Int Endod J.* 2012;45(5):419–28.
 14. Donnermeyer D, Bürklein S, Dammaschke T, Schäfer E. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. *Odontology.* 2018 Dec 15;
 15. Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A. Comparative biocompatibility and osteogenic potential of two bioceramic sealers. *J Endod.* 2019;45(1):51–6.
 16. Jafari F, Jafari S, Etesamnia P. Genotoxicity, bioactivity and clinical properties of calcium silicate based sealers: A literature review. *Iran Endod J.* 2017;12(4):407–13.
 17. Salles LP, Gomes-Cornélio AL, Guimarães FC, Herrera BS, Bao SN, Rossa-Junior C, et al. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. *J Endod.* 2012;38(7):971–6.
 18. International Standard Iso. *Int Organ Stand.* 2012;3.
 19. Urban K, Neuhaus J, Donnermeyer D, Schäfer E, Dammaschke T. Solubility and pH value of 3 different root canal sealers: A long-term investigation. *J Endod.* 2018;44(11):1736–40.
 20. Prüllage RK, Urban K, Schäfer E, Dammaschke T. Material properties of a tricalcium silicate-containing, a mineral trioxide aggregate-containing, and an epoxy resin-based root canal sealer. *J Endod.* 2016;42(12):1784–8.
 21. Benezra MK, Schembri Wismayer P, Camilleri J. Influence of environment on testing of hydraulic sealers. *Sci Rep.* 2017;7(1):1–11.
 22. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials.* 2006;27(15):2907–15.
 23. Zordan-Bronzel CL, Esteves Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chávez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of Physicochemical Properties of a New Calcium Silicate-based Sealer, Bio-C Sealer. *J Endod.* 2019;1–5.
 24. Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, de Almeida M, Navarro LG, Steier L, et al. Physicochemical Properties and Volumetric Change of Silicone/Bioactive Glass and Calcium Silicate-based Endodontic Sealers. *J Endod.* 2017;43(12):2097–101.

25. Carvalho-Junior JR, Correr-Sobrinho L, Correr AB, Sinhoreti MAC, Consani S, Sousa-Neto MD. Solubility and dimensional change after setting of root canal sealers: A proposal for smaller dimensions of test samples. *J Endod.* 2007;33(9):1110–6.
26. Zordan-Bronzel CL, Esteves Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chávez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of physicochemical properties of a new calcium silicate-based sealer, Bio-C Sealer. *J Endod.* 2019;1–5.
27. Torres FFE, Guerreiro-Tanomaru JM, Bosso-Martelo R, Chavez-Andrade GM, Tanomaru Filho M. Solubility, porosity and fluid uptake of calcium silicate-based cements. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170465.
28. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of bioroot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J.* 2017;50(Special Issue 2):e120–36.
29. Wetzel R, Brauer DS. Apatite formation of substituted Bioglass 45S5: SBF vs. Tris. *Mater Lett.* 2019;257:126760.
30. Schäfer E, Zandbiglari T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J.* 2003;36(10):660–9.
31. Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chavez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility , volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. *Int Endod J.* 2020;53(3):385–91.
32. Bohner M, Lemaître J. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? *Biomaterials.* 2009;30(12):2175–9.
33. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM, Prati C. Ion release, porosity, solubility, and bioactivity of MTA plus tricalcium silicate. *J Endod.* 2014;40(10):1632–7.
34. Razdan A, Benetti AR, Bjørndal L. Do in vitro solubility studies on endodontic sealers demonstrate a high level of evidence? A systematic review. *Acta Odontol Scand.* 2019;77(4):253–63.
35. Al-Haddad A, Aziz ZACA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. *Int J Biomater.* 2016;2016:1–10.
36. Torres FFE, Bosso-Martelo R, Espir CG, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Evaluation of physicochemical properties of root-end filling materials using conventional and micro-CT tests. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(4):374–80.
37. Silva EJ, Perez R, Valentim RM, Belladonna FG, De-Deus GA, Lima IC, et al.

- Dissolution, dislocation and dimensional changes of endodontic sealers after a solubility challenge: a micro-CT approach. *Int Endod J*. 2017;50(4):407–14.
38. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dentin extends the antibacterial effect of endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*. 2014;40(4):505–8.
 39. Okabe T, Sakamoto M, Takeuchi H, Matsushima K. Effects of pH on mineralization ability of human dental pulp cells. *J Endod*. 2006;32(3):198–201.
 40. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod*. 2004;30(4):218–9.
 41. Gandolfi MG, Taddei P, Modena E, Siboni F, Prati C. Biointeractivity-related versus chemi/physisorption-related apatite precursor-forming ability of current root end filling materials. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2013;101(7):1107–23.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de materiais odontológicos capazes de induzir uma resposta biológica específica é um assunto de grande relevância nos dias atuais. Na endodontia, o emprego de cimentos bioativos que possam estimular a formação de tecido mineralizado tem enorme valor para melhores prognósticos.

Dentro desse contexto, este estudo avaliou propriedades físico-químicas e bioatividade de duas classes de cimentos endodônticos, armazenados em diferentes soluções. Por meio dos resultados encontrados, foi possível constatar que diferentes soluções de armazenamento influenciam de forma significativa o comportamento de cimentos biocerâmicos. E que metodologias recomendadas na literatura possam não ser indicadas para avaliação de propriedades físico-químicas desses materiais, visto que não consideram o seu potencial bioativo.

Novas metodologias devem ser consideradas para de fato podermos prever o comportamento *in vivo* de cimentos biocerâmicos. Além disso, a realização de trabalhos clínicos bem delineados e com longo tempo de acompanhamento serão essenciais para esclarecer as dúvidas levantadas sobre o desempenho clínico desses materiais.

REFERÊNCIAS

BAINO, Francesco. Bioactive glasses – When glass science and technology meet regenerative medicine. **Ceramics International**, [S. l.], v. 44, n. 13, p. 14953–14966, 2018. DOI: 10.1016/j.ceramint.2018.05.180.

BORGES, R. P.; SOUSA-NETO, M. D.; VERSIANI, M. A.; RACHED-JÚNIOR, F. A.; DE-DEUS, G.; MIRANDA, C. E. S.; PÉCORA, J. D. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 45, n. 5, p. 419–428, 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2011.01992.x.

CANDEIRO, George Táccio De Miranda; CORREIA, Fabrícia Campelo; DUARTE, Marco Antônio Húngaro; RIBEIRO-SIQUEIRA, Danieli Colaço; GAVINI, Giulio. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 38, n. 6, p. 842–845, 2012. DOI: 10.1016/j.joen.2012.02.029.

CANDEIRO, GTM; MOURA-NETTO, C.; D'ALMEIDA-COUTO, RS; AZAMBUJA-JÚNIOR, N.; MARQUES, MM; CAI, S.; GAVINI, G. Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 49, n. 9, p. 858–864, 2016. DOI: 10.1111/iej.12523.

CECHELLA, Bruna Casagrande; DE ALMEIDA, Josiane; FELIPPE, Mara Cristina Santos; TEIXEIRA, Cleonice da Silveira; BORTOLUZZI, Eduardo Antunes; FELIPPE, Wilson Tadeu. Influence of phosphate buffered saline on the bond strength of endodontic cement to dentin. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 126–129, 2015. DOI: 10.1590/1677-3225v14n2a06.

CINTRA, Luciano Tavares Angelo; BENETTI, Francine; DE AZEVEDO QUEIROZ, Índia Olinta; FERREIRA, Luciana Louzada; MASSUNARI, Loiane; BUENO, Carlos Roberto Emerenciano; DE OLIVEIRA, Sandra Helena Penha; GOMES-FILHO, João Eduardo. Evaluation of the Cytotoxicity and Biocompatibility of New Resin Epoxy-based Endodontic Sealer Containing Calcium Hydroxide. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 43, n. 12, p. 2088–2092, 2017. DOI: 10.1016/j.joen.2017.07.016.

DAMAS, Beth Ann; WHEATER, Michelle A.; BRINGAS, Josef S.; HOEN, Michael M. Cytotoxicity comparison of mineral trioxide aggregates and endosequence bioceramic root repair materials. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 372–375, 2011. DOI: 10.1016/j.joen.2010.11.027. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.027>.

DONNERMEYER, David; DAMMASCHKE, Till; SCHAFFER, Edgar; Hydraulic calcium silicate – based sealers : a game changer in root canal obturation ? [S. l.], v. 14, n. 3, p. 197–203, 2020.

DONNERMEYER, David; BÜRKLEIN, Sebastian; DAMMASCHKE, Till; SCHÄFER, Edgar. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. **Odontology**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1007/s10266-018-0400-3.

DONNERMEYER, David; GÖBELL, Lena; BÜRKLEIN, Sebastian; DAMMASCHKE, Till; SCHÄFER, Edgar. Duration of immersion and type of immersion solution distort the outcome of push-out bond strength testing protocols. *[S. l.]*, 2019.

FLORES, D. S. H.; RACHED-JÚNIOR, F. J. A.; VERSIANI, M. A.; GUEDES, D. F. C.; SOUSA-NETO, M. D.; PÉCORA, J. D. Evaluation of physicochemical properties of four root canal sealers. **International Endodontic Journal**, *[S. l.]*, v. 44, n. 2, p. 126–135, 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2010.01815.x.

GANDOLFI, M. G.; TADDEI, P.; TINTI, A.; PRATI, C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. **International Endodontic Journal**, *[S. l.]*, v. 43, n. 10, p. 917–929, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2010.01768.x.

GIACOMINO, Christin Michelle; WEALLEANS, James A.; KUHN, Natalia; DIOGENES, Anibal. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. *[S. l.]*, 2019. a. DOI: 10.1016/j.joen.2018.08.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.08.007>. Acesso em: 14 jun. 2019.

GIACOMINO, Christin Michelle; WEALLEANS, James A.; KUHN, Natalia; DIOGENES, Anibal. Comparative biocompatibility and osteogenic potential of two bioceramic sealers. **Journal of Endodontics**, *[S. l.]*, v. 45, n. 1, p. 51–56, 2019. b. DOI: 10.1016/j.joen.2018.08.007.

HAN, L.; OKIJI, T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. **International Endodontic Journal**, *[S. l.]*, v. 46, n. 9, p. 808–814, 2013. DOI: 10.1111/iej.12062.

HENCH, Larry L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, *[S. l.]*, v. 17, n. 11, p. 967–978, 2006. DOI: 10.1007/s10856-006-0432-Z.

International Standard Iso. **International Organization for Standardization**, *[S. l.]*, v. 3, 2012.

JAFARI, Farnaz; JAFARI, Sanaz; ETESAMNIA, Paria. Genotoxicity, bioactivity and clinical properties of calcium silicate based sealers: A literature review. **Iranian Endodontic Journal**, *[S. l.]*, v. 12, n. 4, p. 407–413, 2017. DOI: 10.22037/iej.v12i4.17623.

JONES, Julian R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomaterialia**, *[S. l.]*, v. 9, n. 1, p. 4457–4486, 2013. DOI: 10.1016/j.actbio.2012.08.023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2012.08.023>.

KOCH, Kenneth; BRAVE, Dennis. A New Day Has Dawned: The Increased Use of Bioceramics in Endodontics. **Dentaltown**, *[S. l.]*, v. 10, n. 4, p. 39–43, 2009. Disponível em: <http://www.ibioceramix.com/files/DentDown.pdf>.

KOKUBO, Tadashi; TAKADAMA, Hiroaki. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, *[S. l.]*, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 2006. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.

LEAL, F.; DE-DEUS, G.; BRANDÃO, C.; LUNA, A. S.; FIDEL, S. R.; SOUZA, E. M. Comparison of the root-end seal provided by bioceramic repair cements and White MTA. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 44, n. 7, p. 662–668, 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2011.01871.x.

LOUSHINE, Bethany A.; BRYAN, Thomas E.; LOONEY, Stephen W.; GILLEN, Brian M.; LOUSHINE, Robert J.; WELLER, R. Norman; PASHLEY, David H.; TAY, Franklin R. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 37, n. 5, p. 673–677, 2011. DOI: 10.1016/j.joen.2011.01.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.01.003>.

MENDES, Aline Teixeira; BARCELLOS, Paula; SÓ, Bruna Barcelos; HASHIZUME, Naomi; VIVAN, Rodrigo Ricci; ABREU, Ricardo; DUARTE, Antonio Húngaro; VINÍCIUS, Marcus; SÓ, Reis. Evaluation of Physicochemical Properties of New Calcium Silicate-Based Sealer. [S. l.], v. 29, p. 536–540, 2018.

PARIROKH, Masoud; TORABINEJAD, Mahmoud. Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review-part I: chemical, physical, and antibacterial properties. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 36, n. 1, p. 16–27, 2010. DOI: 10.1016/j.joen.2009.09.006.

PÉREZ, A. L.; SPEARS, R.; GUTMANN, J. L.; OPPERMAN, Lynne A. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot™ MTA and White MTA. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 564–570, 2003. DOI: 10.1046/j.1365-2591.2003.00691.x.

PRÜLLAGE, Raquel Kathrin; URBAN, Kent; SCHÄFER, Edgar; DAMMASCHKE, Till. Material properties of a tricalcium silicate-containing, a mineral trioxide aggregate-containing, and an epoxy resin-based root canal sealer. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 42, n. 12, p. 1784–1788, 2016. DOI: 10.1016/j.joen.2016.09.018.

SALLES, Loise Pedrosa; GOMES-CORNÉLIO, Ana Livia; GUIMARÃES, Felipe Coutinho; HERRERA, Bruno Schneider; BAO, Sonia Nair; ROSSA-JUNIOR, Carlos; GUERREIRO-TANOMARU, Juliane Maria; TANOMARU-FILHO, Mario. Mineral trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 38, n. 7, p. 971–976, 2012. DOI: 10.1016/j.joen.2012.02.018.

SILVA ALMEIDA, Luiza Helena; MORAES, Rafael Ratto; MORGENTHAU, Renata Dornelles; PAPPEN, Fernanda Geraldo. Are Premixed Calcium Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 527–535, 2017. DOI: 10.1016/j.joen.2016.11.019.

TORABINEJAD, M.; PARIROKH, M.; DUMMER, P. M. H. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part II: other clinical applications and complications. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 284–317, 2018. DOI: 10.1111/iej.12843.

TORRES, Fernanda Ferrari Esteves; ZORDAN-BRONZEL, C. L.; GUERREIRO-TANOMARU, Juliane Maria; CHAVEZ-ANDRADE, G. M.; PINTO, J. C.;

TANOMARU-FILHO, Mário. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility , volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 53, n. 3, p. 385–391, 2020. DOI: 10.1111/iej.13225.

URBAN, Kent; NEUHAUS, Julian; DONNERMEYER, David; SCHÄFER, Edgar; DAMMASCHKE, Till. Solubility and pH value of 3 different root canal sealers: A long-term investigation. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 44, n. 11, p. 1736–1740, 2018. DOI: 10.1016/j.joen.2018.07.026.

VERTUAN, Gislene Cristina; DUARTE, Marco Antonio Hungaro; MORAES, Ivaldo Gomes De; PIAZZA, Bruno; VASCONCELOS, Bruno de Carvalho; ALCALDE, Murilo Priori; VIVAN, Rodrigo Ricci. Evaluation of Physicochemical Properties of a New Root Canal Sealer. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 501–505, 2018. DOI: 10.1016/j.joen.2017.09.017.

WILLIAMS, David F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials**, [S. l.], v. 29, n. 20, p. 2941–2953, 2008. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.04.023.

ZHANG, Hui; SHEN, Ya; RUSE, N. Dorin; HAAPASALO, Markus. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 1051–1055, 2009. DOI: 10.1016/j.joen.2009.04.022.

ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. **International Endodontic Journal**, [S. l.], v. 43, n. 9, p. 769–774, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2010.01733.x.

ZHOU, Hui Min; SHEN, Ya; ZHENG, Wei; LI, Li; ZHENG, Yu Feng; HAAPASALO, Markus. Physical properties of 5 root canal sealers. **Journal of Endodontics**, [S. l.], v. 39, n. 10, p. 1281–1286, 2013. DOI: 10.1016/j.joen.2013.06.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.06.012>.

ZORDAN-BRONZEL, Cristiane Lopes; ESTEVES TORRES, Fernanda Ferrari; TANOMARU-FILHO, Mario; CHÁVEZ-ANDRADE, Gisselle Moraima; BOSSO-MARTELO, Roberta; GUERREIRO-TANOMARU, Juliane Maria. Evaluation of Physicochemical Properties of a New Calcium Silicate-based Sealer, Bio-C Sealer. **Journal of endodontics**, [S. l.], p. 1–5, 2019. DOI: 10.1016/j.joen.2019.07.006.

APÊNDICES

ANEXO A – Normas do Periódico Brazilian Dental Journal

Scope and policy

The Brazilian Dental Journal is a peer-reviewed (double-blind system) scientific journal that publishes Original Full-Length Papers, Short Communications, Case Reports and Invited Reviews, dealing with the several fields of dentistry or related areas, with open access. Only original papers will be considered for publication. In submitting a manuscript, the authors should state in the cover letter that the material has not been published previously and is not under consideration by another journal in either electronic or printed versions.

ELECTRONIC	ADDRESS	FOR	SUBMISSION
http://mc04.manuscriptcentral.com/bdj-scielo			

MANUSCRIPTS MUST BE SUBMITTED IN ENGLISH. Authors whose primary language is not English must have their manuscript reviewed by someone proficient in English. **Manuscripts accepted for publication will be submitted to the Technical Review for revision of English grammar and scientific writing and to fit the text into the Journal's standards. The cost of the Technical Review will be charged to the authors. Submission of a manuscript to BDJ implies the acceptance of these terms.** The decision of acceptance for publication relies on the Editors and is based on the recommendation of the Editorial Board and/or *ad hoc* reviewers. Authors of manuscripts not recommended for publication will receive an email explaining the decision. The concepts emitted in the papers published in the BDJ are the sole responsibility of the authors, not necessarily reflecting the Editorial Board's opinion.

All manuscripts will be submitted to peer-review. Authors and referees will be kept anonymous during the review process. Articles accepted for publication become property of the journal.

Brazilian Dental Journal is an open access journal, which means that all published articles are freely available on the Internet immediately upon publication.

The Brazilian Dental Journal shall retain the copyright and publishing rights of all published articles, including translations. Users can use, reuse and build upon the material published in the journal but only for non-commercial purposes and provided

the source is clearly and properly mentioned.

The Journal adopts plagiarism identification system (AntiPlagiarist - ACNP Software)

The Brazilian Dental Journal is indexed by DOAJ database for public access.

Form and preparation of manuscripts

THE FOLLOWING GUIDELINES MUST BE FOLLOWED CAREFULLY.

General

- The authors must submit the manuscript in Word and in PDF, comprising the title page, text, tables, figure captions and figures (photographs, micrographs, radiographs, schematic drawings, graphs, computer-generated images, etc).
- The manuscript must be typed in Times New Roman 12 font, with 1.5 spacing, 2.5-cm margins at each side. **DO NOT USE** bold letters, watermarks or other resources to make the text visually attractive.
- Pages should be numbered consecutively, starting with the summary.
- Full-length manuscripts are assembled in the following sections:
 - 1) Title Page
 - 2) Summary and Key Words
 - 3) Introduction; Material and Methods; Results; Discussion
 - 4) Summary in Portuguese (an item necessary for Latin American Indexing Services that will be provided for non-Brazilian authors by the Journal)
 - 5) Acknowledgements (if any)
 - 6) References
 - 7) Tables
 - 8) Figure captions
 - 9) Figures
- All titles of sections (Introduction, Material and Methods, etc) must be capitalized in regular font type (not bold).
- Results and Discussion **MUST NOT** be joined in a single section.
- Short Communications and Case Reports should be divided into appropriate sections.

- Products, equipments and materials: the trade name must be followed by the manufacturer's name, city, state and country, within parentheses upon first mention. For further mentions, only the manufacturer's name is required.
- All abbreviations must be explained at first mention.

Title page

- The first page must contain the title of the manuscript, a short title (maximum of 40 characters, to be used as a running head), author(s) name(s) (no more than 6) and their Department(s), School(s) and/or University (s). **DO NOT INCLUDE** the author's titles (DDS, MSc, PhD, etc.) or position (Professor, Graduate student, etc.).
- Provide the name and **complete** address of the corresponding author (inform email, telephone and fax numbers).
- The title page must be uploaded at the website as a separate file (not included in the body of the manuscript).

Manuscript

- The first page of the manuscript must contain: title of the manuscript, short title with no more than 40 characters, and NO authors' names or identification.

Summary

- The second page should contain a summary of no more than 250 words, stating the aims, methods, results, and any conclusions drawn from the study. Do not use topics and paragraphs and do not cite references in the Summary.
- A list of key words (no more than 5) should be included below the summary in lowercase letters, separated by commas.

Introduction

- Summarize the purpose of the study, giving only pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

Material and Methods

- Material and methods should be presented in sufficient detail to allow

confirmation of the observations. **Indicate the statistical methods used, if applicable.**

Results

- Present the results in a logical sequence in the text, tables and figures, emphasizing the important information.
- Do not repeat in the text data contained in the tables and illustrations. The important observations should be emphasized.
- Do not repeat the same data in tables and figures.
- Describe the statistical data in this section.

Discussion

- Summarize the findings without repeating in detail the data given in the Results section.
- Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite pertinent studies.
- Present your conclusions at the end of the Discussion, indicating how your study is pertinent and/or its clinical implications. Presentation of the conclusions in topics should be avoided.

Summary in Portuguese (for Brazilian authors only)

- The Summary in Portuguese should be **IDENTICAL** to the English version (Summary). **DO NOT INCLUDE** title and key words in Portuguese.

Acknowledgements

- Financial support by government agencies should be acknowledged. If appropriate, technical assistance or assistance from colleagues may be acknowledged.

References

- References must follow the Journal's style. Authors should refer to a current issue of the BDJ for guidance on reference citation and presentation of the reference list.
- References must be numbered consecutively in the text in order of citation, within parentheses, without space between numbers: (1),

(3,5,8), (10-15). **DO NOT USE** superscript numbers.

- For papers with two authors, cite both authors in the text, as follows:
Ex: "According to Santos **and** Silva (1)...". If there are more than 3 authors, cite only the first author and add "et al.". Ex: "Pécora et al. (2) reported that..."
- All authors of each paper should be included in the Reference List unless there are 7 or more. In this case, the first 6 authors should be given, followed by "et al.".
- The reference list must be typed at the end of the manuscript in numerical sequence. **No more than 25 references may be cited.**
- Citation of abstracts and books, as well as articles published in non-indexed journals should be avoided, unless absolutely necessary. **Do not cite references in Portuguese.**
- Abbreviations of journal titles should conform to those used in Dental Index. The style and punctuation of references must follow the format illustrated below:

Journal

articles

1. Lea SC, Landini G, Walmsley AD. A novel method for the evaluation of powered toothbrush oscillation characteristics. Am J Dent 2004;17:307-309.

Book

2. Shafer WG, Hine MK, Levy BM. A Textbook of Oral Pathology. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1983.

Chapter

in

a

Book

3. Walton RE, Rotstein I. Bleaching discolored teeth: internal and external. In: Principles and Practice of Endodontics. Walton RE (Editor). 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p 385-400.

Tables

- Each table with its title must be typed after the text. Tables should be numbered with Arabic numerals. **DO NOT USE** vertical lines, bold letters and capital letters (except the initials).
- The corresponding title should appear at the top of each table.
- Tables must contain all necessary information and be

understandable without allusions to the text.

Figures

- **BDJ WILL NOT ACCEPT FIGURES EMBEDDED IN FILES ORIGINATED IN TEXT-EDITING SOFTWARE (WORD OR SIMILAR) OR FIGURES ORIGINATED IN POWER POINT.**
- The digital files of the images should be generated in Photoshop, Corel or any other image-editing software and saved in the CD-ROM. Image files should have TIFF extension and 300 dpi minimum resolution. Only BLACK & WHITE figures are accepted. Save the figures in the CD-ROM.
- Lettering and identifying marks must be clear and sharp, and the critical areas of x-rays and photomicrographs must be demarcated and/or isolated.
- Separate parts of composite figures must be labeled with capital letters (A, B, C, etc). Single figures and composite figures must have minimum width of 8 cm and 16 cm, respectively.
- Figure captions should be numbered with Arabic numerals and typed on a separate page, after the lists of references or after the tables (if any)

Submission of manuscripts

CHECKLIST FOR AUTHORS PRIOR TO SUBMISSION

1. Submission letter;
2. Title page.
3. Manuscript file (text, tables, figure captions).
4. In the manuscript, observe:
 - identification of authors only on the title page.
 - text typed in Times New Roman 12 font, with 1.5 spacing, 2.5-cm margins at each side.
 - tables, figure captions and figures at the end of the manuscript.
5. Digital files of figures, black & white, saved in TIFF format with minimum resolution of 300 dpi.

There are no fees for submission and evaluation of articles.

