

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS

BEATRIZ ANJOS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS E BIOLÓGICAS DE UMA NOVA PROPOSTA DE
CIMENTO ENDODÔNTICO À BASE DE HIDROXIAPATITA.**

CAMPINAS

2024

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS

CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

BEATRIZ ANJOS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS E BIOLÓGICAS DE UMA NOVA PROPOSTA DE
CIMENTO ENDODÔNTICO À BASE DE HIDROXIAPATITA.**

Dissertação de Mestrado apresentado como exigência para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde, ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Vida – Pontifícia Universidade Católica de Campinas.

Orientador: Prof. O Dr. Carlos Eduardo Fontana.

CAMPINAS

2024

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE**

BEATRIZ ANJOS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS E BIOLÓGICAS DE UMA NOVA PROPOSTA DE
CIMENTO ENDODÔNTICO À BASE DE HIDROXIAPATITA.**

Dissertação defendida e aprovada em 13 de dezembro de 2024 pela
Comissão Examinadora



Prof. Dr. Carlos Eduardo Fontana
Orientador(a) da Dissertação e Presidente da Comissão Examinadora
Pontifícia Universidade Católica de Campinas



Prof. Dr. Augusto Etchegaray Junior
Pontifícia Universidade Católica de Campinas



Prof. Dr. João Daniel Mendonça de Moura
Centro Universitário do Estado do Pará

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS

Anjos Dos Santos, Beatriz

**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS E
BIOLÓGICAS DE UMA NOVA PROPOSTA DE CIMENTO
ENDODÔNTICO À BASE DE HIDROXIAPATITA./ Beatriz Anjos
dos Santos- Campinas: PUC-Campinas, 2024.**

51 il.

Orientador: Carlos Eduardo Fontana.

Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências da
Saúde)- Programa de Pós-graduação em Ciências da
Saúde, Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade
Católica de Campinas, Campinas, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Cimento. 2. Endodôntico. 3. Hidroxiapatita.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter guiado meus passos na minha carreira profissional e pessoal.

À minha família,

Ao meus esposo e companheiro, que sempre acreditou em mim e que fez de tudo para que meus sonhos e projetos se concretizasse

Aos meus pais que são a base e suporte para que eu possa trilhar meu caminho profissional com excelência. Serei eternamente grata pelo apoio de vocês, por acreditarem nesse sonho comigo e por terem me criado com tanto esmero, me ensinando princípios e dizendo que o caminho honesto é sempre o melhor.

A minha irmã Jéssica Anjos, que é a minha pessoa favorita e que sempre me motivou a acreditar em mim mesma.

A minhas amigas de vida e profissão Dra Stefanie Palumbo e Dra Mariana Rúbia que sempre me apoiaram e foram alicerce mediante as dificuldades.

A minha irmã de coração Michele Cristina Mendonça, que sempre me apoiou desde os primórdios de vida.

Aos meus avós Ana Caires Anjos e Laudelino Augusto Anjos que cumpriram seus papéis de avós brilhantemente e que me deixaram muitas saudades.

Aos meus avós de coração Luci Mendonça e José Carlos Mendonça que sempre estiveram presentes na minha vida.

Aos meus avós Deijanira Muniz e Amarilio José dos Santos que sempre torceram pelo meu sucesso.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. O Dr. Carlos Eduardo Fontana, meu orientador da iniciação científica (graduação) e agora do mestrado Mestrado que com toda a sua sabedoria e experiência, pôde transmitir seus conhecimentos à mim durante os seis anos dentro da Universidade PUC-Campinas. Por toda a paciência, parceria, amizade e ensinamentos, agradeço de coração por todos esses anos.

Ao Prof. A Dra. Fabiana Pastana, por todo apoio, desde a graduação para que eu chegasse nesse momento, serei eternamente grata, você representa inspiração como pessoa e profissional.

Ao Prof. A Dra. Sandra Echeverria, por todo apoio, desde a graduação para que eu chegasse nesse momento, agradeço por sempre dizer que daria certo e que estaríamos juntas. Só tenho a agradecer.

Ao Prof. O Dr. Daniel Guimarães, por todo apoio, desde a graduação para que eu chegasse nesse momento, serei eternamente grata, você representa inspiração como pessoa e profissional.

À Prof^a. A Dra. Solimar Maria Ganzarolli Splendore, pela atenção, prontidão e por toda a ajuda fornecida para que eu chegasse até esse momento.

Aos colegas da turma do Mestrado em Ciências da Saúde, pela oportunidade de conhecer um pouco de cada um, em que muitas vivências de extrema valia foram compartilhadas.

A dedicação desta pesquisa é para a minha família, meu pai Aparecido Muniz, minha mãe Vera Lucia Caires Anjos, minha irmã Jéssica Anjos, meu esposo e companheiro José Vanderley, em forma de agradecimento por serem a base e meu alicerce na minha vida pessoal e profissional.

" A coragem não é ausência do medo; é a persistência apesar do medo". Conserve os olhos fixos num ideal sublime, e lute sempre pelo que deseja, pois só quem luta é digno da vitória que almeja.Podemos aprender constantemente até na natureza. Um bom exemplo é um rio.O rio só atinge o seu objetivo porque aprendeu a contornar os obstáculos."

Helvis
Amorim

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar duas propostas de cimento endodôntico à base de hidroxiapatita, originalmente em forma sintética e a base de casca de ovos. Foram divididos em quatro grupos de cimentos: Ah plus Bioceramic (HB), Ah plus Jet (HJ), Cimento Endodôntico à Base de Hidroxiapatita Obtida da casca de Ovos (CO), Cimento Endodôntico à Base de Hidroxiapatita Sintética (CS). A metodologia de análise incluiu 4 avaliações: teste de viabilidade celular, capacidade antimicrobiana, escoamento e tempo de presa. Todas estas avaliações e testes foram realizados dentro da norma ISO 6876:2012, a fim de verificar a eficácia do cimento endodôntico frente a todas essas propriedades. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste de normalidade D'Agostino. Apenas o resultado "teste de escoamento" demonstrou distribuição normal ($p > 0,05$) e foram submetidos ao teste de ANOVA complementado por Tukey. As demais variáveis "viabilidade celular (MTT)", "atividade antimicrobiana" e "tempo de presa" mostraram distribuição não normal e dessa maneira, foi aplicado o teste de Kruskal –Wallis, complementado por Dunn. O cimento que demonstrou melhor condição de viabilidade celular, comparado ao controle DMEM foi o AH-Plus Bioceramic, seguido pelo AH-Plus Jet. Na diluição de 1:2, 1:4 e 1:8 não houve diferença significativa entre os grupos quando comparado ao Ah-Plus Jet. Frente a atividade antimicrobiana ao *E. Faecalis* não houve diferença significativa entre o cimento de hidroxiapatita a base da casca de ovo e controle positivo, o que mostra um perfil interessante do cimento. Frente ao microrganismo *C. Albicans* o grupo controle positivo diferiu estatisticamente de todos os grupos, com exceção ao Ah Plus Jet (Dentsply). O cimento Ah Plus Jet (HJ) demonstrou o maior escoamento comparado aos outros cimentos. Na análise de tempo de presa inicial e final o cimento HJ demonstrou o maior tempo despendido em ambas as situações. O cimento Hb foi o que demonstrou menor tempo de presa inicial e final. Conclui-se que mais estudos sobre as propriedades dos cimentos testes são necessários, mediante o alcance do seu potencial associado ao seu ineditismo.

Palavras-chave: *Cimento de canal radicular, Endodontia, Hidroxiapatita.*

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate two proposals for endodontic cements based on hydroxyapatite, originally in synthetic form and based on eggshell. They were divided into four groups of cements: Ah plus Bioceramic (HB), Ah plus Jet (HJ), Endodontic Cement Based on Hydroxyapatite Obtained from Eggshells (CO), Endodontic Cement Based on Synthetic Hydroxyapatite (CS). The analysis methodology included four evaluations: cell viability test, antimicrobial capacity, flow and setting time. All these evaluations and tests were performed within the ISO 6876:2012 standard, in order to verify the effectiveness of the endodontic cement in relation to all these properties. The results obtained were analyzed by the D'Agostino normality test. Only the "flow test" result showed normal distribution ($p > 0.05$) and was submitted to the ANOVA test complemented by Tukey. The other variables "cell viability (MTT)", "antimicrobial activity" and "setting time" showed non-normal distribution and thus, the Kruskal-Wallis test was applied, complemented by Dunn. The cement that showed the best cell viability condition, compared to the DMEM control, was AH-Plus Bioceramic, followed by AH-Plus Jet. In the dilution of 1:2, 1:4 and 1:8, there was no significant difference between the groups when compared to Ah-Plus Jet. Regarding the antimicrobial activity against *E. Faecalis*, there was no significant difference between the eggshell-based hydroxyapatite cement and the positive control, which shows an interesting profile of the cement. Against the microorganism *C. Albicans*, the positive control group differed statistically from all groups, with the exception of Ah Plus Jet (Dentsply). The Ah Plus Jet (HJ) cement demonstrated the highest flow rate compared to the other cements. In the analysis of initial and final setting time, the HJ cement demonstrated the longest time spent in both situations. The Hb cement demonstrated the shortest initial and final setting time. It is concluded that further studies on the properties of the test cements are necessary, given the scope of their potential associated with their novelty.

Key words: *Root canal cement, Endodontics, Hydroxyapatite.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vial contendo Células L929 congeladas	22
Figura 2: Frasco de Cultura com Células	22
Figura 3: Células vivas em Microscópio	22
Figura 4: Inserção Frasco Cultura Celulas L929 em estufa	23
Figura 5: Preparação dos Cimentos	24
Figura 6: Ponto de Fio	24
Figura 7: Cimentos Inseridos nas Arruelas	24
Figura 8: Tubo de Falcon com Eluatos	25
Figura 9: Eluatos em Estufa	25
Figura 10: Plaqueamento de células	26
Figura 11: Desenho e Planejamento do Plaqueamento	27
Figura 12: Filtragem dos eluatos	27
Figura 13: Quantificação por Espectrofotometria	28
Figura 14: Gabarito de Orientação dos Poços	29
Figura 15: Manipulação dos cimentos	29
Figura 16: Inoculação dos Microrganismos com swab	30
Figura 17: Escavação dos poços em capela de anaerobiose	30
Figura 18: Inserção Cimentos nos poços	31
Figura 19: Aspecto final das placas	31
Figura 20: Ah Plus Jet com carga 120 g.	32
Figura 21: Cimento hidroxiapatita Sintética(CS) e Ah Plus Bioceramic (HB)	32
Figura 22: Altura da Arruela	33
Figura 23: Diâmetro interno arruela	34
Figura 24: Ah Plus Jet e Ah Plus Bioceramic - teste presa	34
Figura 25: Cimentos de hidroxiapatita: Casca de ovo(co) Sintética(cs)	34
Figura 26: Inserção Agulha de Gilmore	35
Figura 27: Inserção Agulha de Gilmore HB	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Divisão de Grupos de Cimentos para testes metodológicos.	20
Tabela 2: Resultados do teste de Kruskal Wallis Complementado por Dunn – MTT	39
Tabela 3: Resultados do teste de Kruskal Wallis Microorganismo E.Faecalis	40
Tabela 4: Resultados do teste de Kruskal Wallis Microorganismo C.Albicans	40
Tabela 5: Resultados do teste de Anova e Tukey – Teste de Escoamento	41
Tabela 6: Resultados do teste de Kruskal Wallis e Dunn – Tempo de presa	42

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

%: Porcentagem

MTT: (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5- fenil brometo de tetrazolina) teste avaliação viabilidade celular

HJ: Cimento endodôntico Ah Plus Jet(Dentispaly)

HB: Cimento endodôntico Ah Plus Biocerâmico(Dentispaly)

CS: Cimento endodôntico de hidroxiapatita sintético- Material teste

CO: Cimento endodôntico de hidroxiapatita obtida casca ovos- Material teste

L929: Linhagem celular de fibroblastos

Ns: Não houve mudança significativa entre as amostras

P: Houve mudança significativa entre as amostras

HAP: Materiais poliméricos que contém hidroxiapatita

HA: Hidroxiapatita

CaCO₃: Carbonato de cálcio

CaO: óxido de cálcio

DMEM: Meio Eagle Modificado por Dulbecc

FBS: Soro Fetal Bovino

Anti-Anti: Antifúngico

CO₂: Dióxido de carbono

UV: Ultravioleta

µL: Microlitro

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS	15
1. INTRODUÇÃO	1
2. PROPOSIÇÃO	4
3. METODOLOGIA	5
3.1. Divisão dos Grupos	5
3.2. Obtenção da Hidroxiapatita da casca de Ovos.....	6
3.3 Avaliação da Viabilidade Celular - MTT.....	7
3.3.1 Preparação das Células L929.....	7
3.3.2 Confecção dos Extratos de Cimento	9
3.3.3 Confecção dos Eluatos.....	11
3.3.4 Plaqueamento das Células.....	12
3.3.5 Filtragem e Colorimetria MTT.....	13
3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana.....	14
3.5. Avaliação do Escoamento	18
3.6. Avaliação do tempo de presa	19
3.7 Análise estatística.....	22
4. RESULTADOS	23
4.1. Avaliação da Viabilidade Celular	23
4.2. Avaliação da Atividade antimicrobiana	23
4.3. Avaliação do Escoamento	25
4.4. Avaliação do Tempo de presa	26
5. DISCUSSÃO	27
6. CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO

O objetivo do tratamento dos canais radiculares é consentir a permanência dos dentes na cavidade bucal, de forma que restabeleça a saúde do paciente. Para o sucesso deste tratamento é essencial que o preparo químico mecânico favoreça a penetração das substâncias irrigadoras, tornando possível a limpeza, ampliação, e a instrumentação do sistema de canais radiculares, possibilitando que ao final do tratamento, a obturação propicie condições necessárias para o restabelecimento da saúde dentária (LOPES et. al., 2010)

A obturação tem como objetivo isolar o sistema de canais radiculares do periodonto apical, impedindo a entrada de fluidos e contaminantes. Para isso, é determinante um conjunto de procedimentos para alcançar um selamento hermético do sistema de canais radiculares (AL-HADLAQ et al., 2013; BALLULLAYA et al., 2017; KOÇAK et al., 2013; SIQUEIRA 2003).

Os cimentos endodônticos são utilizados com o intuito de eliminar a interface existente entre os cones de gutta-percha e entre as paredes do canal radicular, tornando a obturação mais homogênea e diminuindo o risco de infiltração. Este desempenha uma importante função preenchendo áreas que são de difícil acesso, como ramificações, deltas apicais, canais acessórios e espaços em que a gutta-percha é incapaz de ser adaptada (Araújo et al., Almeida et al., cit in. Marques et al., 2011).

Os cimentos mais conhecidos atualmente classificam-se em cimentos com à base de óxido de zinco-eugenol, contendo hidróxido de cálcio, resinosos, à base de silicone, ionômero de vidro e silicato de cálcio (ou biocerâmico). Para que o mesmo consiga alcançar um selamento adequado, várias propriedades desses materiais têm relação direta na efetividade e potencial quando falamos de resultado de tratamento, principalmente frente às propriedades de: biocompatibilidade, capacidade de escoamento, tempo de presa e atividade antimicrobiana. (AMOROSO et al., 2023).

Os minerais naturais têm sido usados continuamente em aplicações biomédicas devido às suas propriedades físico-químicas e biocompatíveis únicas. Minerais e metais de origem natural são amplamente utilizados em aplicações de regeneração de tecidos. Neste aspecto, a hidroxiapatita (HA) é um mineral cerâmico bem conhecido, composto principalmente de fosfato e cálcio que é amplamente utilizado na regeneração e reparação de tecidos ósseos e dentários (ELANGO et al., 2022).

A hidroxiapatita é o constituinte mineral natural encontrado no osso representando de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes. A sua versão sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna amplamente utilizada como material de suporte ou complemento em implantes e próteses para regeneração óssea (MORENO, 2015; NING et al., 2015; YUNOKI et al., 2006), daí o grande interesse em sua produção. Estas

propriedades somadas à sua alta capacidade de adsorver e/ou absorver moléculas, fazem da hidroxiapatita um excelente suporte para ação prolongada de drogas anticancerígenas no tratamento de tumores ósseos (NING et al., 2015; YUNOKI et al., 2006). O desenvolvimento de hidroxiapatita granulada é de grande interesse devido à sua ampla utilização na área ortopédica e traumatológica (medicina e odontologia).

Devido à boa bioatividade, osteocondutividade e boas propriedades mecânicas, os compósitos poliméricos HAP são frequentemente usados como carga em biomateriais dentários, em cimentos ósseos, processamento de produtos odontológicos e engenharia de tecido ósseo (Mohammadzadeh Rad et al., 2022).

Os primeiros estudos sobre a utilização de materiais cerâmicos como biomateriais começaram com Albee, em 1930, utilizando uma cerâmica de fosfato tricálcico para regenerar um defeito ósseo e para a formação de osso novo. Entretanto, somente 50 anos depois começaram a aparecer diferentes tipos de cerâmicas de fosfato de cálcio como materiais implantáveis para aplicação em medicina e odontologia (COSTA *et al.*, 2009).

De acordo com Costa *et al.* (2009), a grande aceitação das biocerâmicas à base de sais de fosfato de cálcio deve-se, principalmente, ao seu alto grau de biocompatibilidade, que está relacionada com a sua similaridade química a dos materiais normalmente encontrados, já o grande interesse pela hidroxiapatita como biomaterial, está relacionado com o fato desta ser a principal fase mineral encontrada no tecido ósseo e ter alta biocompatibilidade.

Dentre os fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita (HAP) vem se destacando por conta de aplicações para tratamentos de doença do tecido ósseo e este destaque pode ser explicado pela sua alta similaridade com o tecido ósseo humano, biocompatibilidade, e de suas características de osteocondução e osteoindução, que aceleram a cicatrização de tecidos minerais (SADAT-SHOJAI, KHORASANI, et al., 2013).

A hidroxiapatita é composta de fosfato de cálcio e tem uma estrutura cristalina única que lhe confere resistência e dureza excepcionais. Embora a hidroxiapatita possa ser sintetizada artificialmente em um laboratório, ela também pode ser encontrada em fontes naturais, como o dente e a casca de ovo. Confere-se ao seu uso complementar a capacidade de reduzir a hipersensibilidade e potencialmente aumentar a remineralização de tecidos (FONTANA et al., 2023) (HILLER *et al.*, 2018).

Na área odontológica a hidroxiapatita é utilizada para evitar perda óssea em regiões de alvéolo após extração de um ou vários elementos dentários, como também, recuperação de áreas com reabsorção óssea. Pinos de titânio revestidos com hidroxiapatita são usados no implante para a substituição da raiz e vem sendo pesquisado em outras áreas como a endodontia. (COSTA *et al.*, 2009). Outras especialidades odontológicas podem ser beneficiadas

pelo uso desse biomaterial à base de hidroxiapatita, como é o caso da endodontia.

Os benefícios conferidos pelo uso da hidroxiapatita na endodontia se dá ao seu baixo custo, propriedade de biocompatibilidade e possibilidade de melhorar as propriedades mecânicas do cimento tornando-o um material promissor para uso (FONTANA et al., 2023).

Tendo conhecimento das propriedades da hidroxiapatita como uma grande possibilidade de biomaterial, justifica-se mencionar uma técnica de obtenção e extração da mesma proveniente de dentes extraídos, que seriam descartados em lixos hospitalares, como também resíduos de cascas de ovos. Esses materiais são ricos em carbonato de cálcio como também em hidroxiapatita, como no caso propriamente dos dentes. A técnica a ser apresentada não depende de um alto custo com relação aos equipamentos e substâncias envolvidas no processo, e principalmente, a material prima é adquirida gratuitamente, além de proporcionar a produção de um biomaterial com grandes características e possibilidades.

. Mediante isso, pesquisadores têm se dedicado a desenvolver cimentos endodônticos capazes de oferecer propriedades necessárias ou até superiores com objetivo de alcançar uma melhor terapia endodôntica. Se formulado o cimento endodôntico o diferencial esperado é a sua bioatividade, ou seja, a capacidade interagir com tecidos vivos, resultando na formação de uma camada de apatita e mineralização na interface material-tecido.

2. PROPOSIÇÃO

Este estudo teve o objetivo primário de testar as propriedades físicas e biológicas de um novo cimento endodôntico à base de hidroxiapatita, extraída da casca de ovos, de modo que ele atenda às propriedades necessárias para ser caracterizado um bom cimento endodôntico.

Além disso, o presente trabalho também teve como objetivo secundário: Avaliar o comportamento do cimento endodôntico frente a sua propriedade de biocompatibilidade; Comparar as propriedades do novo cimento ao cimentos AH Plus Jet e AH Plus Bioceramic frente às suas propriedades de escoamento, capacidade antimicrobiana e tempo de presa.

A hipótese nula deste trabalho seria a similaridade entre os grupos representados pelos cimentos e formulações quanto à biocompatibilidade, tempo de presa, escoamento e atividade antimicrobiana.

3. METODOLOGIA

3.1. Divisão dos Grupos

Tabela 1: Divisão de Grupos de Cimentos para testes metodológicos.

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	FABRICANTE
Ah Plus (HJ)	Pasta catalizadora: hexametil etileno tetramina, óxido de zircônia, silicone e siloxanos, hidróxido de cálcio e tungstato de cálcio. MK Life AH Plus Pasta A: Resina epóxi de Bisfenol-A, resina epóxi de bisfenol-F, tungstato de cálcio, silício, óxido de ferro. Pasta B: Dibenzil Diamina, amino adamantano, Tricyclodecanediamine, tungstato de cálcio, óxido de zircônia, sílica e óleo de silicone	Dentsply Sirona (Charlotte, Carolina do Norte, EUA)
AH Plus Bioceramic(HB)	Pasta catalizadora: hexametil etileno tetramina, óxido de zircônia, silicone e siloxanos, hidróxido de cálcio e tungstato de cálcio. MK Life AH Plus Pasta A: Resina epóxi de Bisfenol-A, resina epóxi de bisfenol-F, tungstato de cálcio, silício, óxido de ferro. Pasta B: Dibenzil Diamina, amino adamantano, Tricyclodecanediamine, tungstato de cálcio, óxido de zircônia, sílica e óleo de silicone	Dentsply Sirona (Charlotte, Carolina do Norte, EUA)
Cimento Hidroxiapatita a Base da Casca de Ovos(CO)	Hidroxiapatita obtida através da casca de ovos+ Acido poliacrílico 25%	Material Experimental
Cimento Hidroxiapatita Sintética (CS)	Hidroxiapatita Sintética + Ácido Poliacrílico 25%	Material Experimental

Descrição componentes utilizado em cada cimento utilizado no estudo.

O presente estudo foi realizado nos laboratórios da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas)

3. 2. Obtenção da Hidroxiapatita da casca de Ovos

Um total de aproximadamente 1231,15g de ovos de galinha foram utilizados para o processo laboratorial para obtenção de extração de hidroxiapatita. Após a pesagem foi realizada a trituração das cascas de ovos em um almofariz (ABB, Quebec, Canadá).

Para imersão total das amostras foi realizado um procedimento para obtenção de uma solução hidroalcoólica, onde as amostras foram desidratadas e lavadas em 1076 ml de álcool etílico absoluto 92.8% (NEON, São Paulo, Brasil) com 924 ml de água destilada (PUC Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil). Para que houvesse o processo de remoção residual e higienização das cascas de ovos as amostras junto com a solução foram colocadas em um liquidificador (Ri2096, Philips Walita).

A separação da solução e casca de ovos foi realizada através de uma filtragem em peneira onde o resíduo da solução foi descartado em becker de vidro. As cascas de ovo foram inseridas em estufa para que ocorresse a desidratação e secagem das mesmas. Com o processo de secagem realizado, foi dado início ao processo de trituração das cascas.

Foram sendo colocadas pequenas quantidades das cascas dentro do triturador/mixer (MARCONI, Piracicaba, São Paulo, Brasil) por 40 segundos, sendo 2 ciclos de 20 segundos, na velocidade 7. O resultado obtido foi um material de grânulos superfinos, um pó fino e uniforme com a coloração amarelada

Para que ocorresse reação química e se decompusesse as cascas de ovos as amostras precisavam passar por um tratamento térmico. O processo de mudança de CaCO_3 (carbonato de cálcio) para CaO (óxido de cálcio) é chamado de calcinação e esse processo ocorre em temperaturas elevadas e inicialmente passou por dois ciclos.

Para que pudéssemos utilizar o óxido de cálcio (CaO) que foi obtido através da calcinação das cascas de ovos de galinhas, primeiro foi necessário fazer a solubilização em 1L de água destilada (PUC-Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil) para a proporção estequiométrica estabelecida por 20 minutos.

Para regular a adição do ácido fosfórico na solução para que ocorresse a síntese, foi construído um sistema que permitiu controlar a temperatura da reação e o pH. Onde utilizamos um agitador magnético (FISATOM, modelo 752A, São Paulo, Brasil), um pHmetro (DIGIMED, São Paulo, Brasil), uma bureta para controle de adição de ácido fosfórico (ÊXODO CIENTÍFICA, Sumaré, São Paulo, Brasil) no sistema e um suporte metálico para montagem do sistema

Foi realizada a sifonação do líquido após a decantação do pó no fundo do Becker. O período que a solução foi deixada de descanso para que ocorresse a decantação foi de 96 horas. Após as 96 horas houve a decantação, fizemos a sifonação do líquido e passamos o pó, ainda umedecido, para placas petri de vidro.

Após a sifonação, a hidroxiapatita foi levada à estufa por 7 horas e 30 minutos a 50°C para facilitar a secagem. Após a secagem em estufa, a hidroxiapatita foi colocada em cadinhos de porcelana modelo M-55 (CHIAROTTI, São Paulo, Brasil), e foi levada para a mufla (QUIMIS, Diadema, São Paulo, Brasil) por 180 minutos em 1050°C.

Então, optou-se por fazer a sifonação do líquido após a decantação do pó no fundo do Becker. O período que a solução foi deixada de descanso para que ocorresse a decantação foi de 96 horas. Após as 96 horas houve a decantação, fizemos a sifonação do líquido e passamos o pó, ainda umedecido, para placas petri de vidro

3. 3 Avaliação da Viabilidade Celular - MTT

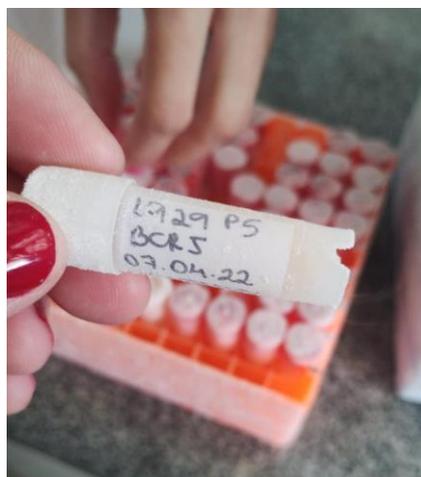
Vários testes para avaliar a toxicidade de biomateriais foram padronizados utilizando culturas celulares. Segundo a normativa ISO 10993-5, os protocolos para testes *in vitro* compõem-se por métodos de contato direto, indireto e extrato do material em diferentes diluições. A interação com diferentes culturas de células permite verificar alterações por mecanismos distintos, como incorporação de corantes vitais ou a inibição da formação de colônias celulares (SEHNEM et al., 2012; ROGERO et al., 2003.)

O ensaio MTT avalia a atividade da enzima succinato desidrogenase mitocondrial em células vivas, através da redução do corante do sal de brometo difenil tetrazólio (MTT), formando cristais violetas insolúveis de formazan, cuja absorção é proporcional a quantidade de células vivas. Logo, apenas as células vivas, com atividade mitocondrial normal, têm a capacidade de clivar o sal amarelo e reduzi-lo ao produto violeta

3.3.1 Preparação das Células L929

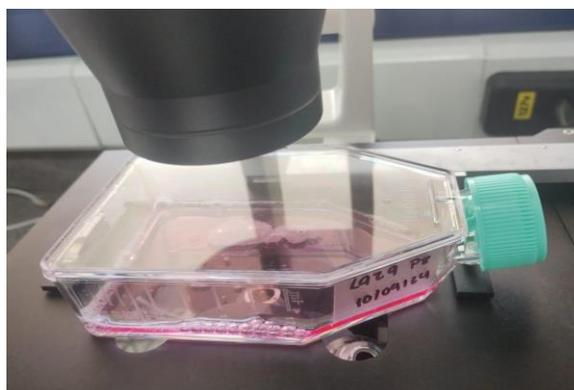
As células L929 (linhagem celular de fibroblastos) estavam congeladas no frasco via (Figura 1) (Munan Glass, Shandong Province, China). As mesmas foram descongeladas e inseridas em frasco de cultura (Jet Biofil, Minas Gerais, MG, Brasil) com 10% de Soro fetal bovino (FBS) + 89 ml do Meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) + 1% de Anti-Ant (Figura 2). Logo após, o mesmo foi inserido em microscópio (Figura 3) para verificar a viabilidade celular e posteriormente colocado em estufa a 37°C, 95% de umidade e 5% de CO₂ por 24 horas (Figura 4).

Figura 1: Vial contendo Células L929 congeladas



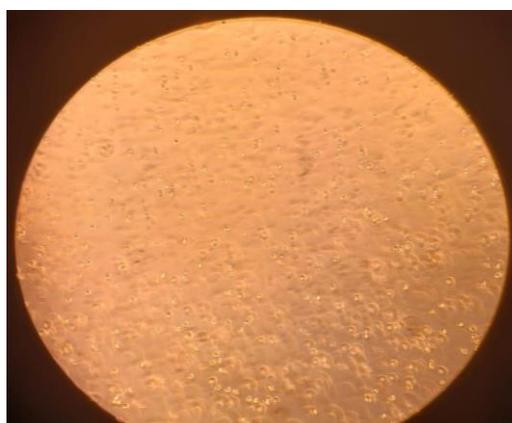
Fonte: Autoria Própria

Figura 2: Frasco de Cultura com Células



Fonte: Autoria Própria

Figura 3: Células vivas em Microscópio



Fonte: Autoria Própria

Figura 4: Inserção Frasco Cultura Celulas L929 em estufa



Fonte: Autoria Própria

3.3.2 Confeção dos Extratos de Cimento

Os cimentos foram preparados agregando hidroxiapatita(pó) + veículo de forma homogênea(Figura 5), de modo em que ficassem na consistência de ponto de fio (Figura 6). Posteriormente, o mesmo foi inserido em placas de vidro estéreis, utilizando uma espátula 24 (Duflex, SSWWhite,Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Utilizaram-se 8 arruelas estéreis (Sider Comercial, ,São Paulo, SP, Brasil) para cada grupo de cimento: Cimento obtido através da casca de ovo (CO); Cimento obtido através da hidroxiapatita sintética (CS); Cimento Ah Plus Jet (HJ)Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA); Ah Plus Bioceramic (HB)(Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA).O intuito de utilizar arruelas se deu a padronização da quantidade inserida posteriormente em eluato.

As mesmas passaram por um processo de pesagem em balança analítica(Shimadzu,São Paulo, SP, Brasil) antes e após a inserção dos cimentos para comparação e cálculo. Depois de obtido o preparo, os materiais foram inseridos nas arruelas (Sider Comercial, ,São Paulo, SP, Brasil) estéreis de maneira a preencher todo o espaço ausente (Figura 7), após esse processo foram colocados em estufa a 37°C, 95% de umidade e 5% de CO₂ por 24 horas. Passado esse período , realizamos novamente a pesagem em balança analítica (Shimadzu,São Paulo, SP, Brasil) das arruelas com os cimentos já sólidos para calcular identificar quais pesos das arruelas que mais se assemelhavam para serem passíveis de utilização. As arruelas sólidas foram colocadas em luz UV com tempo de dez minutos por face.

Cada cimento foi testado em quantidades iguais por 4 vezes de repetição como em Patrícia *et al.*(2014). Sendo 4 diluições estabelecidas para teste: 1-2;1-4;1-8;1-16.

Figura 5: Preparação dos Cimentos



Fonte: Autoria Própria

Figura 6: Ponto de Fio



Fonte: Autoria Própria

Figura 7: Cimentos Inseridos nas Arruelas



Fonte: Autoria Própria

3.3.3 Confeção dos Eluatos

Para realização do eluato foram selecionadas 8 arruelas de cada grupo que tinham o peso equivalente. As 8 arruelas pertencentes a cada grupo, foram colocadas em um tubo de falcon de 50 ml (Synth, São Paulo, SP, Brasil) adicionado um meio de cultura DMEM (volume/poço 6,30ml)(Figura 8). Acrescemos um tubo de falcon com as arruelas estéreis sem nenhum cimento(vazia) como forma de controle, totalizando o total de 5 Falcons ao final do experimento. Os eluatos permaneceram por 48 horas em estufa a 37°C, 9,005% de umidade e 5% de CO₂ para que obtivéssemos as soluções de extratos que foram filtradas antes de serem utilizadas.

Figura 8: Tubo de Falcon com Eluatos



Fonte: Aatoria Própria

Figura 9: Eluatos em Estufa



Fonte: Aatoria Própria

3.3.4 Plaqueamento das Células

As células L929 foram plaqueadas na concentração de 5×10^3 células/poço em placas de 96 poços (TPP)(n= 10 poços) para realização dos experimentos. Os ensaios foram realizados em diluições de 10% (extrato diluído em meio de cultura), totalizando 100 μ L por poço. Todos os ensaios foram realizados utilizando meio de cultura DMEM como controle negativo. As diluições que foram estabelecidas são: 1:2;1:4;1:8 e 1:16.

Como no estudo de Patrícia et al.(2014) foram realizadas diluições com o intuito de verificar qual concentração ideal teria melhor resultado frente a viabilidade celular e por conseguinte seria mais biocompatível. As diluições que foram estabelecidas são: 1:2;1:4;1:8 e 1:16.

Os grupos foram divididos em duas placas, tendo os grupos controles (o próprio meio) DMEM em ambas as placas.

Na placa (1) de 96 poços ficaram depositados quadruplicatas do Cimento de hidroxiapatita a base de casca de ovos(CO), quadruplicatas do Cimento de hidroxiapatita Sintética(CS), e quadruplicatas das Arruelas. O controle das arruelas teve o intuito de verificar se o material teria capacidade de interferir nos resultados, validando o método.

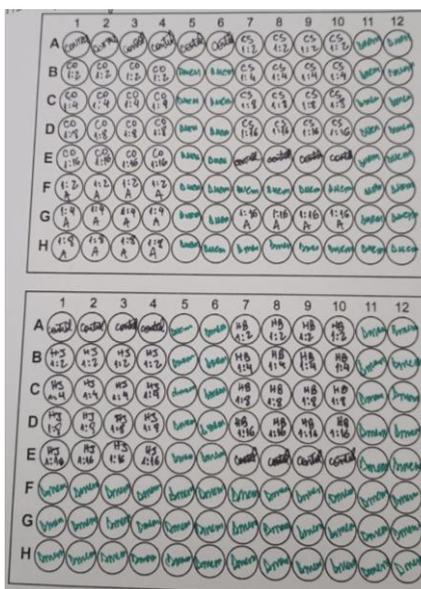
Na placa (2) de 96 poços ficaram depositados quadruplicatas do Cimento Ah Plus Jet(HJ), quadruplicatas de Cimento Ah Plus Bioceramic(HB).

Figura 10: Plaqueamento de células



Fonte: Aatoria Própria

Figura 11: Desenho e Planejamento do Plaqueamento

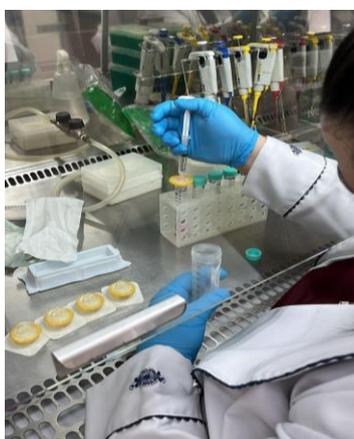


Fonte: Autoria Própria

3.3.5 Filtragem e Colorimetria MTT

A fase de filtragem foi realizada com filtro a vácuo(Jet Biofil, Minas Gerais, MG, Brasil) em cada grupo de eluato(Figura 12). As células permaneceram incubadas e expostas ao extratos dos cimentos endodônticos nos períodos de 24 horas. Após esse período foi adicionado 10 μ L da solução de MTT (Sigma-Aldrich) na concentração 5 mg/mL, seguido de incubação de 3h a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade. Após o período de incubação, o conteúdo do poço foi removido e o produto colorimétrico formazan foi solubilizado em 100 μ L de isopropanol acidificado 0,04 N (Sigma-Aldrich). As amostras contendo o formazan solubilizado foi quantificado por espectrofotometria a 570 nm em um leitor de ELISA (Thermo Fisher Scientific in, Waltham, Massachusetts) .

Figura 12: Filtragem dos eluatos



Fonte: Autoria Própria

Figura 13: Quantificação por Espectrofotometria

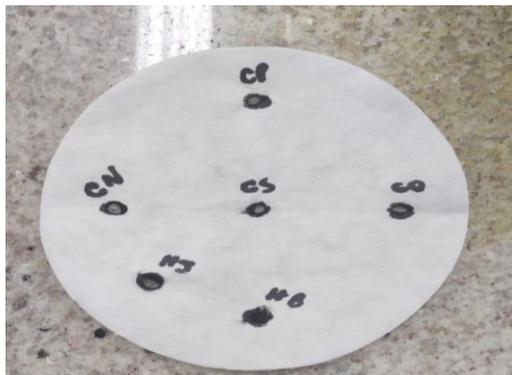
Fonte: Autorial Própria

3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana

Cada cimento foi testado em quantidades iguais por 3 vezes de repetição(triplicata) conforme (Leonardi et al., 2009.)

Nesta parte metodológica, investigamos a atividade antimicrobiana da nova proposta de cimento endodôntico. Os dois microrganismos a serem utilizados estão presentes em lesões periapicais e frequentemente são responsáveis por infectar os canais radiculares, sendo estes: *E. Faecalis* e *C.Albicans*.A bactéria *E. Faecalis* se encontra e está associada em possíveis falhas ao tratamento endodôntico, sendo esse no estágio de infecção primária. A *C. Albicans* é responsável pela formação do biofilme dental podendo estar associado e presente em novas contaminações primárias e secundárias.

Os materiais de teste AH PLUS(Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA), Cimento endodôntico à base de hidroxiapatita(Pontifícia universidade católica de Campinas, Campinas, Brasil) e cimento AH PLUS Bioceramic Sealer (Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA)foram manipulados por profissional habilitado seguindo as normas do fabricante. O método utilizado para avaliação da atividade antimicrobiana foi o método de difusão em ágar, e foi utilizada em duas diferentes concentrações com duas cepas diferentes: *Enterococcus Faecalis(ATCC 29212)*, *Candida Albicans (ATCC 10231)*. Cada cimento foi avaliado em concentrações sugeridas pelo fabricante.

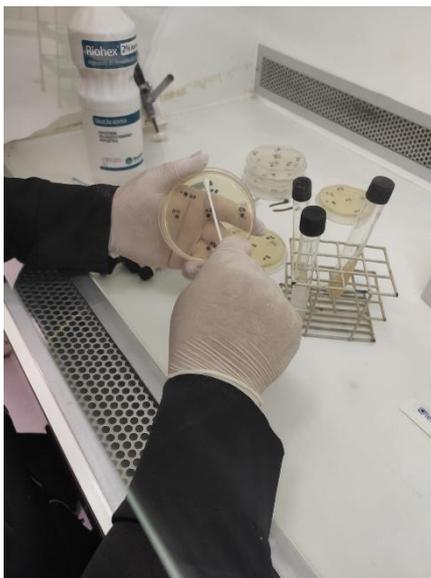
Figura 14: Gabarito de Orientação dos Poços

Fonte: Autoria Própria

Figura 15: Manipulação dos cimentos

Fonte: Autoria Própria

Para obtenção da suspensão de bactérias diluídas as mesmas permaneceram na forma 5×10^8 unidades formadoras de colônias/ml (0,5 em um nefelômetro MCFarland) em TSB (trypticase soy Broth) estéril (Merck, Alemanha). Para confirmação das colônias bacterianas utilizamos a coloração de Gram para que fossem observadas atentamente as características apresentadas na formação e crescimento das colônias. Suspensões de *Enterococcus Faecalis* e *Candida Albicans* foram inoculadas em cotonetes estéreis em placas de ágar Muller-hinton (Merk).

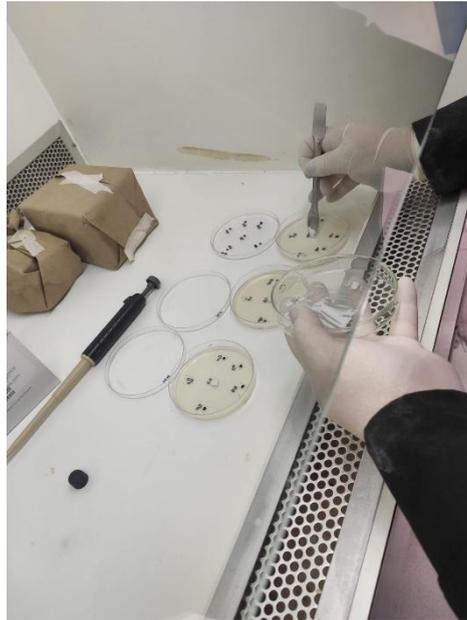
Figura 16: Inoculação dos Microrganismos com swab

Fonte: Autoria Própria

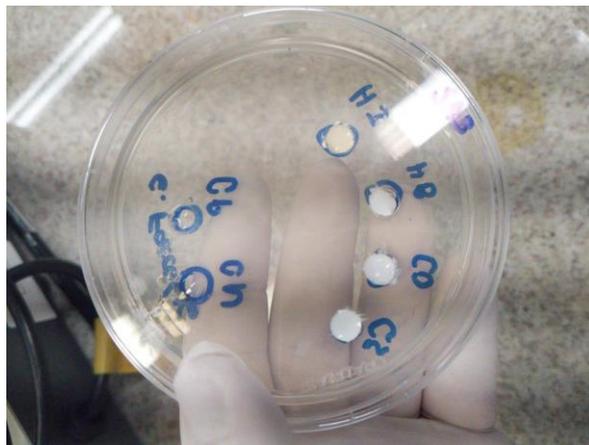
Utilizaram-se 5 poços de 5mm de diâmetro e 5 mm de profundidade em placas, com auxílio de um punch. Dentre os 5 poços tivemos: Clorexidina 2%(Riohex – Rioquímica) sendo o controle positivo; Água estéril (controle negativo) ; Ah Plus Bioceramic(Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA);Ah Plus Jet(Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA); Cimento endodôntico à base de hidroxiapatita sintética e Cimento endodôntico à base de hidroxiapatita extraída da casca de ovos(Pontifícia universidade católica de Campinas, Campinas, Brasil). Os poços foram preenchidos em triplicatas. As placas permaneceram em repouso em temperatura ambiente por 2 horas para difusão dos cimentos no meio de cultura e em seguida foram incubadas em estufa bacteriológica (FANEM®, São Paulo, Brasil) a 37°C por 48 horas.

Figura 17: Escavação dos poços em capela de anaerobiose

Fonte: Autoria Própria

Figura 18: Inserção Cimentos nos poços

Fonte: Autorial Própria

Figura 19: Aspecto final das placas

Fonte: Autorial Própria

Os valores mensurados foram tabulados e submetidos a estatística descritiva por média e desvio-padrão. Para medição da zona de inibição microbiana utilizou-se uma régua de precisão de 0,5 mm e os resultados foram expressos como média e desvio padrão de três experimentos independentes.

3.5. Avaliação do Escoamento

Os cimentos endodônticos avaliados serão divididos em grupos: Cimento Ah Plus Jet (HJ)Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA) ; Ah Plus Bioceramic (HB)(Dentsply,Tulsa dental, OK, EUA);Cimento de Hidroxiapatita Sintética (Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Brasil) e Cimento de Hidroxiapatita a base da casca de ovos (Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Brasil).

A determinação do escoamento foi realizada conforme a Especificação número 57 da ADA (American Dental Association). Os cimentos foram manipulados na consistência ideal, obtendo-se um volume de 0,5 ml ajustado em seringa Luer de 3 ml, em um ambiente climatizado a 23 graus.Foi colocado sobre os cimentos outra placa de vidro com as mesmas medidas e uma carga de 120 gramas.

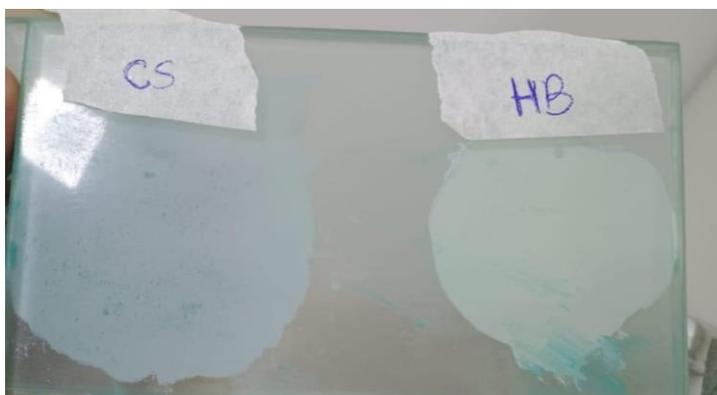
Cada cimento foi testado em quantidades iguais por três vezes de repetição (Almeida *et al.*, 2005).

Figura 20: Ah Plus Jet com carga 120 g.



Fonte: Autoria Própria

Figura 21: Cimento hidroxiapatita Sintética(CS) e Ah Plus Bioceramic (HB)



Fonte: Autoria Própria

As medidas foram feitas com o auxílio de um paquímetro manual, nos tempos de 10 min, 30 min, 60 min, 120 min. Para análise estatística foram realizadas as medidas de tendência central e dispersão-média e desvio padrão em cada grupo e cada tempo. Para a comparação entre os grupos e entre os tempos foi a ANOVA (análise de variância) e depois o teste de Tukey, todos com o nível de segurança de 95%.

3.6. Avaliação do tempo de presa

O tempo de presa foi determinado com base na norma ISO 6876/2012. Os cimentos recém manipulados de acordo com as recomendações do fabricante foram inseridos em arruelas metálicas de aço inoxidável com 3 mm de diâmetro interno e 13,7 mm de altura (n = 4) Para a aferição do tempo de presa, os pesos das agulhas foram seguidos de acordo com a norma ASTM 266/2008. Após passado 180 segundos do início da espatulação, o foram submetidos à marcação com pressão vertical utilizando-se agulhas de Gilmore. Para a determinação do tempo de presa inicial foi utilizada a agulha de 113,4 g, posteriormente, a agulha de 453,6 g para a análise da presa final. Foram anotados os tempos, a cada 10 minutos decorridos desde o início da espatulação até o momento em que não foi possível a visualização de marcação de cada agulha na superfície das amostras, representando a presa inicial e final dos cimentos. Os testes foram realizados em quadruplicata.

Cada cimento foi testado em quantidades iguais por quatro vezes de repetição(Nascimento *et al.*, 2022).

Figura 22: Altura da Arruela



Fonte: Autoria Própria

Figura 23: Diâmetro interno arruela



Fonte: Autorial Própria

Utilizou-se após 30 minutos do início da mistura, uma agulha tipo Gillmore de 100 g e ponta ativa de 2 mm de diâmetro onde foi colocada verticalmente sobre a superfície do material. O uso da agulha foi repetido até que não provoque mais marcas no cimento testado, o que nos dirá o marco da presa inicial do material.

Figura 24: Ah Plus Jet e Ah Plus Bioceramic - teste presa



Fonte: Autorial Própria

Figura 25: Cimentos de hidroxiapatita: Casca de ovo(co) Sintética(cs)



Fonte: Autorial Própria

Figura 26: Inserção Agulha de Gilmore



Fonte: Autoria Própria

Figura 27: Inserção Agulha de Gilmore HB



Fonte: Autoria Própria

3.7 Análise estatística

Todos os dados coletados a partir dos grupos de estudo, independente da variável analisada, foram avaliados quanto ao teste de normalidade de D'Agostino.

Apenas os resultados quanto aos testes de escoamento demonstraram uma condição de normalidade e, portanto, foram analisados estatisticamente pelo teste de ANOVA complementado por Tukey.

Em contrapartida, os dados obtidos frente aos testes de viabilidade celular (MTT), atividade antimicrobiana e tempo de presa apresentaram uma condição não paramétrica, e dessa maneira, foi aplicado o teste de Kruskal –Wallis complementado por Dunn.

O software empregado para avaliação estatística de todos os dados foi o BioStat versão 7.0 para Windows.

4. RESULTADOS

4.1. Avaliação da Viabilidade Celular

Os resultados obtidos do teste de MTT referente aos cimentos endodônticos testados, incluindo as diluições analisadas entre os grupos, encontram-se expressos na tabela .

Tabela 2: Resultados do teste de Kruskal Wallis Complementado por Dunn – MTT

<i>Comparação em pares</i>	1:2 (p)	1:4 (p)	1:8(p)	1:16(p)
<i>Postos médios CO e CS</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Postos médios CO e HJ</i>	ns	ns	ns	< 0.05
<i>Postos médios CO e HB</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
<i>Postos médios CO e DMEM</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
<i>Postos médios CS e HJ</i>	ns	ns	ns	< 0.05
<i>Postos médios CS e HB</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
<i>Postos médios CS e DMEM</i>	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
<i>Postos médios HJ e HB</i>	< 0.05	< 0.05	ns	ns
<i>Postos médios HJ e DMEM</i>	< 0.05	ns	ns	ns
<i>Postos médios HB e DMEM</i>	ns	ns	ns	ns

Valores de P entre as análises de grupo / NS – sem diferença estatística

Os resultados demonstram uma compatibilidade entre os cimentos de hidroxiapatita oriundos de cascas de ovos e versão sintética independentemente da diluição.

O cimento que demonstrou com melhor condição de viabilidade celular, comparado ao controle DMEM foi o cimento AH-Plus Bioceramic, seguido pelo cimento AH-Plus Jet.

De qualquer forma, na diluição de 1:16 tanto o cimento experimental à base de casca de ovo como o sintético diferiu do cimento Ah-Plus Jet.

Na diluição de 1:2,1:4 e 1:8 tanto o cimento experimental à base de casca de ovo como o sintético não houve diferença significativa quando comparado ao cimento Ah-Plus Jet.

As duas versões dos cimentos Ah-Plus não demonstraram diferença quando na análise de diluições 1:8 e 1:16.

4.2. Avaliação da Atividade antimicrobiana

Frente ao microorganismo *E.Faecalis* o grupo controle positivo diferiu estatisticamente de todos os grupos, com exceção ao grupo de hidroxiapatita de casca de ovo, o que mostra um perfil interessante do cimento. O respectivo cimento de hidroxiapatita de casca de ovo também apresentou uma diferença estatística do grupo controle negativo. Entre os grupos experimentais (dos cimentos) não houve diferença entre si.

Tabela 3: Resultados do teste de Kruskal Wallis Microorganismo E.Faecalis

	CP	CN	CO	CS	HJ	HB
CP	-	< 0.05	ns	< 0.05	< 0.05	< 0.05
CN	< 0.05	-	< 0.05	ns	ns	ns
CO	ns	< 0.05	-	ns	ns	ns
CS	< 0.05	ns	ns	-	ns	ns
HJ	< 0.05	ns	ns	ns	-	ns
HB	< 0.05	ns	ns	ns	ns	-

Valores de P entre as análises de grupo / NS – sem diferença estatística

Frente ao microrganismo *C.Albicans* o grupo controle positivo diferiu estatisticamente de todos os grupos, com exceção ao grupo de Ah Plus Jet (Dentsply), o que confere a esse cimento um potencial efeito antimicrobiano contra o respectivo microrganismo. Entre os grupos experimentais (dos cimentos) não houve diferença entre si.

Tabela 4: Resultados do teste de Kruskal Wallis Microorganismo C.Albicans

	CP	CN	CO	CS	HJ	HB
CP	-	< 0.05	< 0.05	< 0.05	ns	< 0.05
CN	< 0.05	-	ns	ns	ns	ns
CO	< 0.05	ns	-	ns	ns	ns
CS	< 0.05	ns	ns	-	ns	ns
HJ	ns	ns	ns	ns	-	ns
HB	< 0.05	ns	ns	ns	ns	-

Valores de P entre as análises de grupo / NS – sem diferença estatística

4.3. Avaliação do Escoamento

Tempo 10 min:

O cimento Ah Plus Jet (HJ) demonstrou o maior escoamento comparado aos outros cimentos, que não apresentaram diferenças entre si.

Tempo 30 min:

No tempo de 30 minutos constatou-se uma única diferença entre o escoamento apresentado pelo cimento de hidroxiapatita a base de cascas de ovos foi o menor entre os outros cimentos avaliados, dentre os quais foram semelhantes entre si.

Tempo 60 min:

Os resultados dentro do tempo de 60 minutos se mantiveram aos observados com 30 minutos.

Tempo 120 min:

Ao final dos 120 minutos o cimento HJ teve o maior escoamento. Já entre os cimentos CS e HB não se observou diferença estatística, tendo o cimento COM o menor índice de escoamento observado.

Tabela 5: Resultados do teste de Anova e Tukey – Teste de Escoamento

	CO	CS	HJ	HB
10 min	41.20 (4.0) ^A	40.10 (11.3) ^A	48.70 (0.5) ^B	44.00 (3.2) ^A
30 min	42.50 (6.5) ^A	44.30 (11.5) ^B	52.50 (0.0) ^B	46.00 (5.0) ^B
60 min	42.60 (10.3) ^A	44.90 (16.1) ^B	54.20 (1.1) ^B	48.10 (6.2) ^B
120 min	44.60 (9.7) ^A	51.80 (18.60) ^C	59.20 (1.1) ^B	51.70 (5.1) ^C

ANOVA complementado por Tukey, valores de média em min e desvio padrão entre parênteses. Letras diferentes demonstram diferença entre si dentro do mesmo tempo de análise.

4.4. Avaliação do Tempo de presa

Tanto para análise de tempo de presa inicial e final o cimento HJ demonstrou o maior tempo despendido em ambas as situações, seguido pelos cimentos CO, CS e HB. O cimento Hb foi o que demonstrou menor tempo de presa inicial e final.

Tabela 6: Resultados do teste de Kruskal Wallis e Dunn – Tempo de presa

	CO	CS	HJ	HB
Inicial	128 (0.7) ^B	193 (0.8) ^C	1155 (0.7) ^D	106 (0.6) ^A
Final	257 (0.7) ^B	387 (0.8) ^C	1440 (0.7) ^D	212 (0.6) ^A

Kruskal-Wallis complementado por Dunn, valores de mediana em mm e desvio interquartilico entre parênteses.

Letras diferentes demonstram diferença entre si dentro do mesmo tempo de análise.

5. DISCUSSÃO

Atualmente existe disponível comercialmente um cimento endodôntico considerado o padrão ouro para comparação com os demais cimentos obturadores. O Ah Plus Jet (Dentsply) apresenta excelentes propriedades físico-químicas, resistência e estabilidade dimensional. Entretanto, sua bioatividade dentro dos tecidos ainda é limitada. Com essa questão a deferir, os seladores cerâmicos vêm sendo desenvolvidos na esperança de que melhorem a resposta do tecido apical e periapical. O mesmo é composto pode conter alumina, zircônia, vidro bioativo, vitrocerâmicas e demais componentes. O Ah Plus Bioceramic(Dentsply) é a atual formulação do mesmo, que promete uma mistura “pronta para uso” e com promessa de boa propriedade físico-química. É o cimento de eleição em estudos comparativos de infiltração e penetração intratubular quando se fala da avaliação de cimentos novos (ARAÚJO *et al.*, 2022). (LISBÔA *et al.*, 2017)

Vem sendo empregado em comparações e testes de novas formulações de cimento. O presente estudo testou 4 cimentos endodônticos sendo: dois cimentos experimentais e dois cimentos já utilizados na endodontia. Ambos os cimentos experimentais são a base de hidroxiapatita sendo um grupo de cimento sintético e outro de cimento hidroxiapatita a base da casca de ovos. O cimento de hidroxiapatita obtida através da casca de ovos se destaca frente ao termo sustentabilidade, visto que um material que seria descartado será utilizado para o tratamento dentário. Milhões de ovos são consumidos globalmente, gerando uma abundância de cascas de ovo. A utilização do CO como biomaterial reduz o desperdício e oferece uma alternativa econômica aos materiais endodônticos existentes. Podendo ser um cimento sustentável e promissor.

O presente estudo também investigou um cimento promissor para o emprego no tratamento endodôntico visando estar dentro da norma ISO 6876:2012, a fim de verificar a eficácia do cimento endodôntico frente a todas essas propriedades. Para isso testes *in vitro* foram realizados com 4 grupos de cimentos sendo esses: Ah Plus Jet(Dentsply), Ah Plus Bioceramic(Dentsply), Cimento endodôntico à Base de hidroxiapatita extraída da casca de ovos (PUC-Campinas) e Cimento endodôntico à base de hidroxiapatita sintética(PUC-Campinas). Foram realizados os testes: teste de viabilidade celular(biocompatibilidade), teste de atividade antimicrobiana, teste de escoamento e tempo de presa(Oliveira *et al.*, 2009).

Os protocolos utilizados para cada etapa realizada neste estudo foram embasados cientificamente. Deste modo o Teste de Viabilidade Celular teve como embasamento os estudos de Patrícia *et al.*(2014) e Jeong *et al.*(2024) , sendo, que um dos estudos também optou pela utilização de células fibroblásticas para avaliação de dois grupos de cimentos endodônticos. O objetivo de ambos foi avaliar a biocompatibilidade de materiais utilizando a ISO 10993-5 que padroniza testes de citotoxicidade *in vitro* e seleciona os métodos mais

adequados.

Os dois estudos avaliaram através do ensaio de MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) a atividade metabólica e atividade das mitocôndrias, que é capaz de penetrar em células viáveis podendo ser metabolizado em formazan. O MTT é um sal de coloração amarela, que quando é metabolizado em formazan é capaz de clivar e se tornar de cor púrpura sendo considerado como método colorimétrico. Em comparação com o estudo, foi realizado a utilização de duas placas de 96 poços, o comparativo utilizou apenas uma placa de 96 poços, pois testaram dois grupos de cimento endodôntico somente. Alguns pontos propostos pelos colegas foram adaptados nessa pesquisa de acordo com necessidades e limitações.

O estudo embasado de Patrícia *et al.* (2014) determinou em seu experimento que houve a necessidade de diluições e que quanto maior a concentração dos meios condicionados ocorria uma diminuição da atividade metabólica, ou seja um aumento da citotoxicidade. Mediante isso, se o cimento for exposto as células diretamente o nível de citotoxicidade causará morte celular. Sendo o eluato e as diluições a melhor abordagem para este teste metodológico.

Quanto aos resultados do teste de viabilidade celular, o mesmo apresentou conformidade com a literatura, é possível observar em Souza *et al.* (2023) e Sanz *et al.* (2022), que compararam ambos os cimentos Ah plus (Dentisply) e Ah Plus Bioceramic que resultaram em o Ah plus Bioceramic sendo superior ao Ah plus Jet quando refere-se a viabilidade celular, do mesmo modo em que apresentaram-se neste estudo. O Ah plus Jet foi o segundo destaque frente a essa propriedade, podendo considerar que ambos podem ser considerados biocompatíveis. Nas diluições 1:8 e 1:16 os mesmos não apresentaram diferença quanto às diluições. Os cimentos experimentais casca de ovo e sintético não tiveram diferença significativa independente da diluição.

A avaliação antimicrobiana teve como embasamento os estudos de Piotto *et al.* (2009) e Dahinten *et al.* (2024), que consistiram em avaliar a atividade antimicrobiana de quatro cimentos endodônticos pelo método de estudo de difusão em ágar. Em ambos ocorreu avaliação do microorganismo *E. Faecalis*, mediante sua presença está comumente relacionada aos casos de reincidência.

Alguns microrganismos são resistentes e estão comumente relacionados à prevalência do insucesso no tratamento endodôntico. O mesmo pode ocorrer devido a falhas do tratamento ou a uma complexa anatomia e inexperiência do operador. A falha do selamento coronário pode ser também considerada como fator etiológico e facilitador. Tanto a *Candida albicans* quando o *E. Faecalis*, conseguem utilizar a seu favor a exclusão de outros microrganismos, conseguindo sobreviver em meio com poucos nutrientes como o canal do dente tratado ou em uma infecção aguda. (Sundqvist *et al.*, 1998). (Araújo *et al.*, 2022)

Estando ambos associados aos casos de insucesso do tratamento endodôntico (Molander e Dahlén, 2003) e persistência das condições patológicas perirradiculares (Gomes

et al., 2004; Rôças et al., 2004; Sirén et al., 2004),(Gupta I *et al.*,2024).

Frente a metodologia, o estudo segue realizando em triplicata e promovendo espécies de punch nas placas para a introdução do cimento.Quanto a análise estatística, seguimos a mensuração dos halos e cálculo em média e desvio padrão. Alguns pontos pelos colegas foram adaptados, assim como a avaliação de diferentes microorganismos e detalhes técnicos.Dentre os controles de validação apresentados utilizamos a : Clorexidina 2%(Riohex Rioquímica) sendo o controle positivo e a Água estéril como controle negativo. O controle positivo foi efetivo na formação de halo de inibição, tornando esse experimento válido.Entre os microorganismos empregados, o cimento de hidroxiapatita a base da casca de ovos(CO) promoveu a formação de halo de inibição somente para o microorganismo *E.faecalis*.

Nesse estudo, frente ao microorganismo *E.Faecalis* o grupo controle positivo diferiu estatisticamente de todos os grupos, com exceção ao grupo de hidroxiapatita de casca de ovo que mostrou uma característica notável diante deste microorganismo. O respectivo cimento de hidroxiapatita de casca de ovo também apresentou uma diferença estatística do grupo controle negativo.Entre os demais grupos experimentais dos cimentos endodônticos não houve diferença entre si.

Nesse estudo, como em Souza *et al.*(2023) , diante ao microorganismo *C.Albicans* não houve diferença estatística entre o Ah plus Jet e o controle positivo(clorexidina 2%), conferindo assim, um potencial antimicrobiano ao respectivo microorganismo. Quanto aos outros grupos de cimento, o grupo controle positivo diferiu estatisticamente, não havendo diferença entre si.

Segundo Ruiz *et al.*(2024), que testou a capacidade antimicrobiana do Ah Plus Jet e Ah plus Bioceramics, observou que a primeiro momento houve erradicação imediata do microorganismo pelo Ah Plus Jet, assim como neste estudo. Entretanto, o Ah Plus Bioceramic necessitou de maior tempo para que pudesse demonstrar suas propriedades antimicrobianas, sendo interessante avaliar este cimento mediante as suas propriedades em um intervalo considerável de tempo.

O ensaio de escoamento teve como embasamento os estudos de Coelho (2016) e Bernardes *et al.*(2010), De acordo com o método proposto pela American Dental Association (especificação ADA n.º 57), os cimentos foram colocados entre 2 placas de vidro sob um peso de 120 g. Os diâmetros dos discos formados foram medidos com um paquímetro digital e mensurados nos tempos de 10 minutos,30 minutos, 60 minutos e 120 minutos.

A análise do escoamento em tempos diferentes se dá pela importância em verificar o comportamento e o grau de escoamento de acordo com o tempo decorrido. Para que seja considerado um bom cimento endodôntico, o mesmo, deve ter uma taxa de escoamento moderada, porque o fluxo excessivo aumenta o risco de extravasamento de material ao periápice, o que pode acarretar danos ao periodonto, e o escoamento insuficiente reduz a penetração nos canais acessórios.(Quaresma *et al.*,2024)(Sena,2018).

Neste estudo o cimento Ah Plus Jet (HJ) demonstrou o maior escoamento comparado aos outros cimentos, corroborando com Lima *et al.* (2016), que comparou o escoamento de 5 cimentos utilizados em Endodontia (AH Plus®, Pulp Canal Sealer®, Endomethasone®, Sealer 26® e Endofill®) e que como resultado teve o Ah Plus como maior tempo de escoamento. Os demais grupos de cimento não apresentaram diferenças entre si.

Quando passaram 30 minutos foi possível observar que o cimento endodôntico a base da casca de ovos teve o menor escoamento dentre os grupos. Os resultados dentro do tempo de 60 minutos se igualaram ao obtido no tempo anterior.

Dado 120 minutos, o cimento Ah Plus Jet(HJ)(Dentsply) foi o cimento com maior escoamento de 59,2 cm e o cimento de hidroxiapatita(CO) 52,4 cm de diâmetro. Ao final dos 120 minutos o cimento HJ teve o maior escoamento. Já entre os cimentos CS e HB não se observou diferença estatística, tendo o cimento de hidroxiapatita a base da casca de ovos o menor índice de escoamento observado.

Foi possível observar no estudo do cimento endodôntico à base de hidroxiapatita, segundo a literatura de autoridade no assunto, GROSSMAN (1976), que, propriedades físicas dos cimentos obturadores, ou seja, o tamanho das partículas do pó pode ser determinante na qualidade do escoamento, tempo de endurecimento e adesão. Mediante isso, a granulação do cimento endodôntico de hidroxiapatita a base da casca de ovos (CO) podendo ser um fator causal em sua baixa atividade de escoamento quando comparado com o cimento de hidroxiapatita sintética, devido ao seu maior refinamento. Sugerindo assim, um maior refinamento para futuros testes com o material experimental, pois a consistência do cimento manipulado irá capacitá-lo a penetrar nas pequenas irregularidades da dentina, sendo fundamental na obturação de canais laterais e ou acessórios.

O tempo de presa do material tem grande valia de modo que para sua aplicação clínica o profissional deverá ter um tempo de trabalho adequado que possibilite o preenchimento dos condutos radiculares. O mesmo pode sofrer interferência nas suas propriedades, os fatores são: a temperatura, relação de pó e líquido, granulometria, meio ambiente e pH. Esse tempo de presa não deve ser longo a ponto de prejudicar a conduta clínica, pois assim pode haver a deterioração do cimento, favorecendo a penetração de agentes irritantes a liberação de possíveis produtos tóxicos, e não deve ser curto, para que o trabalho seja finalizado adequadamente (Nascimento *et al.* 2022) (Faraoni *et al.* 2013)

Como parâmetro para o presente estudo a metodologia empregada por Nascimento *et al.* (2022) foi utilizada, o qual abordou a determinação do tempo de presa através da norma ISO 6876/2012, que tem como padronização a utilização de agulha do tipo gilmore com o objetivo de mensurar o tempo de presa inicial e tempo de presa final do cimento.

Quanto à análise de tempo de presa inicial e final deste estudo, o cimento Ah plus jet demonstrou o maior tempo despendido em ambas as situações. Segundo o fabricante, o tempo

de trabalho é de quatro horas (240min) e o tempo de presa final é vinte e quatro horas (1440 min) semelhante à média do tempo de presa encontrado neste estudo. O estudo de Viapiana et al. (2013), estudou o tempo de presa desse cimento, considerando o valor de 1.345 minutos semelhante ao encontrado neste estudo.

Existem trabalhos na literatura como Flores et al. (2011), que o tempo de trabalho foi de 580,6 minutos, um tempo menor de trabalho comparado ao presente estudo, assim como em Donnelly et al. (2007), que apresentou 579 minutos. Segundo Nascimento et.al (2022), essa diferença pode estar relacionada a quantidade utilizada de pasta A que pode ocasionar maiores tempos de presa devido à ausência de amina disponível para a reação, presente na pasta B.

Na sequência de tempo de trabalho, podemos classificar o cimento de hidroxiapatita a base da casca de ovos (CO) como segundo melhor tempo e cimento de hidroxiapatita sintética (CS) em terceiro lugar. O Ah Plus Bioceramic demonstrou menor tempo de presa inicial e final comparado com todos os cimentos, sendo o esperado baseado no *e-book* do fabricante que explica as alterações realizadas no mesmo que consistiu na adição de componentes bioativos em sua formulação, como o silicato de cálcio, uma mistura de Dióxido de Zircônio, Silicato Tricálcio, Dimetilsulfóxido (DMSO), Carbonato de Lítio e agentes espessantes. Dando caracterizações de tempo de presa mais rápido e maior radiopacidade ao cimento que passa de AH plus para Ah Plus Bioceramica.

Tendo em vista os resultados a hipótese nula foi rejeitada, isso aconteceu devido a uma diferença estatística entre os grupos mediante os testes. Logo, ainda são necessários mais estudos relacionados a propriedades físicas e mecânicas dos cimentos hidroxiapatita a base da casca de ovos (CO) e cimento de hidroxiapatita sintética (CS). Podendo com seu desenvolvimento se tornar de grande valia e relevância.

6. CONCLUSÃO

A presente pesquisa teve como objetivo testar as propriedades físicas e biológicas de um novo cimento endodôntico à base de hidroxiapatita extraída da casca de ovos (CO), comparando-o com outros cimentos endodônticos amplamente utilizados, como o Ah Plus Jet (HJ), Ah Plus Bioceramic e o cimento de hidroxiapatita sintética (CS). Os resultados indicaram que o cimento à base de casca de ovos apresentou características promissoras, especialmente no que se refere à propriedade antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis*, um dos principais microorganismos associados à falha em tratamentos endodônticos.

Comparativamente, o cimento Ah Plus Jet demonstrou um desempenho superior em relação à propriedade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, destacando-se também pelo maior escoamento. No entanto, entre os cimentos de hidroxiapatita sintética e o Ah Plus Bioceramic, não foi observada diferença estatisticamente significativa quanto ao escoamento, enquanto o cimento de hidroxiapatita à base de casca de ovos apresentou o menor índice, sugerindo uma possível limitação em sua fluidez.

Em relação ao tempo de presa, o Ah Plus Jet demonstrou o maior tempo em ambas as condições (inicial e final). O cimento à base de hidroxiapatita de casca de ovos mostrou-se como o segundo melhor em termos de tempo de trabalho, enquanto o cimento de hidroxiapatita sintética obteve o terceiro lugar. O Ah Plus Bioceramic foi o cimento que apresentou o menor tempo de presa, o que pode ser vantajoso em situações clínicas que exijam rápida manipulação.

Os resultados indicam que o cimento de hidroxiapatita à base de casca de ovos (CO) tem um grande potencial, não só por suas propriedades antimicrobianas, mas também por seu caráter sustentável e biocompatível, abrindo novas possibilidades para a utilização de recursos naturais na odontologia.

No entanto, mais estudos são necessários para aprofundar a compreensão das propriedades deste material, especialmente no que se refere à sua durabilidade a longo prazo, comportamento em condições clínicas mais desafiadoras e sua interação com outros materiais endodônticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Haddad A, Abu Kasim NH, Che Ab Aziz ZA. Adaptação interfacial e espessura de seladores de canal radicular à base de biocerâmica. *Dent Mater J*. 2015;34:516-21.

ALMEIDA, JFA Avaliação de diferentes cimentos endodônticos quanto ao escoamento, obturação e selamento marginal em canais laterais produzidos artificialmente em dentes humanos. Disponível em : <https://www.researchgate.net/publication> . Acesso em: 29 out. 2024.

Amoroso-Silva, P., Brasil, SC, Pérez, AR, Tolentino, ES, Alves, FRF, Siqueira, JF, Jr, & Rôças, IN (2023). Influência do tipo de cimento no resultado do tratamento de dentes com periodontite apical: uma revisão sistemática. *Revista odontológica brasileira*, 34(5) , 1–21 . <https://doi.org/10.1590/0103-6440202305471>

Bernardes RA, de Amorim Campelo A, Junior DS, Pereira LO, Duarte MA, Moraes IG, Bramante CM. Avaliação da vazão de 3 cimentos endodônticos: Sealer 26, AH Plus e MTA Obtura. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. Janeiro de 2010;109(1). doi: 10.1016/j.tripleo.2009.08.038. PMID: 20123369.

COELHO, Tainah Botelho, estudo in vitro do nível de escoamento de quatro cimentos endodônticos: Endofill, Ah Plus, Mta Fillapex e Sealer26. 2016.32f. Trabalho de conclusão de curso - do Programa de Especialização em Endodontia do IBPO, Instituto Baiano de Pesquisa Odontológica.

Dahinten A, Kade JC, Soliman S, Krastl G, Gbureck U. Avaliação de cimentos de bagdadita (Ca₃ZrSi₂O₉) para aplicação como novos materiais de obturação endodôntica. *Dent Mater*. 2024 set;40(9):1364-1371. doi: 10.1016/j.dental.2024.05.026. Epub 2024 jun 17. PMID: 38890091.

De Almeida-Junior, Luciano Aparecido et al. "Análise da citotoxicidade e bioatividade dos selantes CeraSeal, BioRoot™ e AH Plus® em células da linhagem pré-osteoblastos." *BMC oral health* vol. 24,1 262. 22 fev. 2024, doi:10.1186/s12903-024-04021-2.

Donnelly, A. et al. Sorção de água e solubilidade de selantes de canal radicular à base de resina de metacrilato. *J. Endod.*, v. 33, n. 8, p. 990-4, 2007.

Elango J, Bushin R, Lijnev A, De Aza PN, Martínez CP, Marín JMG, Hernandez AB, Olmo LRM, Val JEMS. O efeito de biomateriais de hidroxiapatita carregados com germânio no crescimento de células-tronco mesenquimais da medula óssea Células. 26 de setembro de 2022;11(19):2993. doi: 10.3390/cells11192993. PMID: 36230954; PMCID: PMC9563598.

Faraoni Gislaíne, et al. “Avaliação Comparativa Do Escoamento E Tempo de Presa Do Cimento MTA Fillapex®.” *Revista Da Faculdade de Odontologia - UPF*, vol. 18, não. 2, 15 de janeiro de 2014 , <https://doi.org/10.5335/rfo.v18i2.3032> . Acessado em 26 de maio de 2023.

Figueiredo de Melo Costa, A.; de Lima, M. Marques de Almeida Lima, L.; Cordeiro, V.; de Souto Viana, K.; de Souza, C.; Lira, H.. 4. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos, América do Sul*, 4 21 12 2009.

Flores DS et al. Avaliação das propriedades físico-químicas de quatro seladores de canal radicular. *Int Endod J.* 2011 Fev; 44 (2):126-35.

Fontana, CE, Dos Santos, BA, Campos, MC, de Lima, SG, da Silva, VC, Gonçalves, AD, de Moura, JD, Rocha, DG, Pinheiro, SL, & Bueno, CS (2023). Avaliação do selamento apical de um cimento à base de hidroxiapatita de casca de ovo. *Jornal de odontologia clínica e experimental*, 15(11), e895–e903. <https://doi.org/10.4317/jced.60743> .

Grossman, LI Um cimento de canal radicular melhorado. *J. Amer. Dent. Assoc.*, v. 56, n. 3, p. 381-5 Mar 1958.

Grossman, LI *Endodontic Practice*. 8ª ed. Filadélfia, Lea & Febiger, 1974. p. 299-300.

Grossman, LI Obtenção de canais radiculares com pontas de prata. *D. Cosmos*, v. 78, n. 7, p. 679-87 julho de 1936.

Grossman, LI *Terapia de canal radicular*. 2ª ed. Filadélfia, Lea & Febiger, 1946. p. 281.

Grossman, LI Tempo de presa de óleos essenciais selecionados com um pó de cimento de canal radicular padrão. *J. Endod.*, v. 8, n. 6, p. 277-9 junho de 1982.

Grossman, LI Algumas observações sobre obtenção de condutos radiculares. *Rev. Odonte. Argent.*, v. 50, n. 2, pág. 61-6 de fevereiro de 1962.

Grossman, LI Propriedades físicas de cimentos de canal radicular. J. Endod., v. 2, n. 6, p. 166-75 junho de 1976.

Gupta I, Kaur M, Kanaparthi A, et al. Avaliação da eficácia antimicrobiana de seladores de canal radicular modificados com vários extratos de ervas contra *Candida Albicans* e *E Faecalis*. J Pharm Bioallied Sci. 2024;16(Suppl 1). doi:10.4103/jpbs.jpbs_415_23.

Hiller KA, Buchalla W, Grillmeier I, Neubauer C, Schmalz G. Efeitos in vitro de cremes dentais contendo hidroxiapatita na permeabilidade da dentina após múltiplas aplicações e envelhecimento. Sci Rep. 2018 Mar 20;8(1):4888. doi: 10.1038/s41598-018-22764-1. PMID: 29559639; PMCID: PMC5861090.

Hasan Zarrabi M, Javidi M, Naderinasab M, Gharechahi M. Avaliação comparativa da atividade antimicrobiana de três cimentos: novo cimento endodôntico (NEC), agregado de trióxido mineral (MTA) e Portland. J Oral Sci. 2009 Set;51(3):437-42. doi: 10.2334/josnusd.51.437. PMID: 19776512.

Jeong SR, Chae YK, Nam OH, Park TY, Shin J, Jih MK. Citotoxicidade de duas fitas adesivas liberadoras de flúor. J Clin Pediatr Dent. 2024 set;48(5):154-165. doi: 10.22514/jocpd.2024.115. Epub 2024 set 3. PMID: 39275833.

Li Ning, Hans Malmström, Yan-Fang Ren; Scaffolds porosos de colágeno-hidroxiapatita com células-tronco mesenquimais para regeneração óssea. J Oral Implantol 1 de fevereiro de 2015; 41 (1): 45–49. doi : <https://doi.org/10.1563/AAID -JOI -D -12 -00298> .

Lima, Lucas Nascimento, Pedrosa, Marlus da Silva e Delboni, Maraisa Greggio. Avaliação do escoamento e extravasamento de cinco cimentos endodônticos através de radiografia digital: um estudo in vitro. SALUSVITA, Bauru, v. 2, pág. 195-206, 2016.

Lin, X.; Song, J.; Zhang, Z.; Shao, L.; Zhang, Y. (2023). “Cimentos bioativos à base de hidroxiapatita: design, propriedades e aplicações em engenharia de tecidos dentários e ósseos.” Journal of Materials Chemistry B, 11(42), 9073-9094. <https://doi.org/10/d3tb01742f>.

Magne, P., Araujo, MS, Della Bona, A. (2017). Influência da técnica de cimentação no desempenho de obturações de canal radicular. Journal of Esthetic and Restorative Dentistry, 29(1), 23–31. <https://doi.org/10.1111/idiota.12302>.

Melo, SL, dos Santos, RR, & Castro, GDF (2024). Propriedades físico-químicas e radiopacidade de seladores de canais radiculares à base de biocerâmica: Uma revisão sistemática. *Journal of Endodontics*, 50(4), 123–138. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2024.03.003>.

Mojir F, Marzouk S. Efeito da nova geração de selantes de canal radicular na capacidade de selamento do canal radicular. Um estudo de laboratório. *Saudi Endod J*. 2023 Out;13(4):121-130. doi: 10.4103/sej.sej_45_23.

Mozaffari H, Mohammadi N, Rezaeian M, Sadeghi M. Avaliação de vazamento microbiano em selantes de canal radicular usados com técnica de obturação de cone único: Um estudo in vitro. *De*.

Oliveira, Mariana Gonçalves da Silva et al. “Avaliação comparativa da resistência de união de três seladores endodônticos: Epiphany, AH Plus e BioRoot RCS.” *Journal of Endodontics* vol. 44,7 (2018): 1140-1144. doi:10.1016/j.jo.2018.07.003.

Oliveira, Mariana Gonçalves da Silva et al. “A influência de quatro seladores endodônticos na inflamação periapical e infiltração bacteriana em um modelo in vivo.” *Journal of Endodontics* vol. 43,9 (2017): 1464-1469. doi:10.1016/j.jo.2017.09.003.

Oliveira, Mariana Gonçalves da Silva et al. “A Influência de Diferentes Seladores de Canal Radicular na Microdureza da Dentina.” *Journal of Endodontics* vol. 45,5 (2019).

Oliveira, D. & Benelli, P. & Amante, Edna. (2009). Valorização de Resíduos Sólidos: Casca de Ovos como Matéria-Prima no Desenvolvimento de Novos Produtos.

Perdigão, J., & Lopes, LA (2022). Selamento e adesão endodôntica: uma atualização. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 36(4), 543-565. <https://doi.org/10.1111/jad.12101>.

Rezaei, N., & Hashemi, H. (2023). Avaliação da biocompatibilidade e atividade antimicrobiana de seladores de canal radicular biocerâmicos: Uma revisão sistemática. *Clinical Oral Investigations*, 27(8), 2735–2746. <https://doi.org/10.1007/s0078-023-051-5>.

Ribeiro, LJ, & Lima, RS (2023). Uma revisão das propriedades químicas e biológicas de seladores de canal radicular. *Revista Brasileira de Odontologia*, 34(3), 253-264. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2023.01.006>.

Rocas, IN, & Siqueira, JF (2023). Avanços em biomateriais endodônticos: do convencional à nova geração de materiais de selamento. *Journal of Endodontics*, 49(4), 490–500. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2023.01.006>.

Santos, VR, & Montagner, F. (2024). Comparação das propriedades físico-químicas de diferentes seladores endodônticos. *Journal of Endodontics*, 50(3), 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2024.01.006>.

Souza, EP, & Araujo, MS (2024). Avaliação radiográfica do selamento apical de seladores biocerâmicos de canais radiculares. *Journal of Endodontics*, 50(5), 781–790. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2024.01.006>.

Siqueira, JF et al. “Avaliação microbiana de seladores de canal radicular.” *Journal of Endodontics* vol. 35,1 (2009): 1-6. doi:10.1016/j.jo.2008.09.028.

Siqueira, JF, & Rôças, IN (2024). O papel dos seladores endodônticos no controle microbiano: uma revisão crítica. *Revista Brasileira de Odontologia*, 35(1), 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2024.01.006>.

Versiani MA, Salles LP, de Lima Júnior F, et al. Comparação da capacidade de selamento e resistência de união de diferentes seladores de canal radicular. *Int Endod J*. 2012 Mar;45.

Versiani, MA, et al. “Avaliação da capacidade de selamento do canal radicular de três seladores endodônticos usando tomografia computadorizada de feixe cônico.” *Journal of Endodontics*, vol. 40, no. 9, 2014, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2014.09.006>.

Wenzel, A., & Bernardi, AL (2024). Uma nova perspectiva sobre a capacidade de selamento: eficácia dos selantes endodônticos no vazamento microbiano. *Journal of Endodontics*, 50(6), 1145–1152. <https://doi.org/10.1016/j.jo.2024.01.006>.