

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA – NÍVEL  
MESTRADO  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA – ENDODONTIA

NATÁLIA VILLA

**UMA NOVA MEDICAÇÃO DE CANAL RADICULAR À BASE DE SILICATO  
DE CÁLCIO: PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, PENETRAÇÃO NOS  
TÚBULOS DENTINÁRIOS E CITOTOXICIDADE**

Porto Alegre

2019

NATÁLIA VILLA

UMA NOVA MEDICAÇÃO DE CANAL RADICULAR À BASE DE SILICATO DE  
CÁLCIO: PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, CITOTOXICIDADE E  
PENETRAÇÃO NOS TÚBULOS DENTINÁRIOS

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como pré-requisito final para a obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica – Endodontia.

Linha de Pesquisa: Biomateriais e Técnicas Terapêutica em Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Reis Só

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Villa, Natália  
UMA NOVA MEDICAÇÃO DE CANAL RADICULAR À BASE DE  
SILICATO DE CÁLCIO: PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS,  
PENETRAÇÃO NOS TÚBULOS DENTINÁRIOS E CITOTOXICIDADE /  
Natália Villa. -- 2019.  
53 f.  
Orientador: Marcus Vinicius Reis Só.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa  
de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,  
2019.

1. Endodontia. 2. Medicação intracanal. I. Só,  
Marcus Vinicius Reis, orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Loiva Teresinha Villa e Ademar Villa** pelo amor e apoio incondicional.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Marcus Vinicius Reis Só** que é imensamente responsável pela minha formação e é um exemplo de profissional. Sou grata por ter acreditado na minha capacidade.

Às amigas **Marina e Mariana** por termos construído nesses anos de convívio um vínculo que vai além da Endodontia; obrigada pela acolhida, parceria e amizade.

Aos meus amigos e colegas de pesquisa, **Ângela, Prof. Ricardo, Pedro, Ramiro, Maurício, Lilian, Aline, Bruna, Renata, Fernanda, Theodoro e Luana** pela parceria e ajuda.

À colega **Aline Mendes** pela colaboração na execução prática do trabalho.

À Professora **Vanessa Valgas dos Santos e Ubirajara da Costa** pelo suporte e execução da metodologia de citotoxicidade.

Aos **professores da área de Endodontia do programa de pós-graduação da UFRGS** pelos ensinamentos e convívio amistoso.

Ao laboratório **Laboratório de Bioquímica e Microbiologia (LABIM)** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial à professora **Lina Krafta** que efetuou as medidas de pH e liberação de cálcio para o presente trabalho.

Ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia** da UFRGS por permitir a realização de um sonho.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)** pela oportunidade de estudo.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão de bolsa de mestrado.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Muito obrigada.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
1.1 Medicação intracanal .....	12
1.2 Hidróxido de cálcio .....	12
1.3 Materiais biocerâmicos .....	14
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
2.1 Objetivo geral .....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
<b>3. ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>17</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>37</b>
REFERÊNCIAS.....	39
<b>APÊNDICES</b>	
<b>APÊNDICE 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido .....</b>	<b>45</b>
<b>APÊNDICE 2 – Termo de doação de dentes .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS</b>	
<b>ANEXO 1 – Aprovação da Comissão Científica e Ética (COMPESQ) da Faculdade de Odontologia da UFRGS .....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXO 2 – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFRGS .....</b>	<b>50</b>

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o pH, liberação de íons cálcio, radiopacidade e penetração nos túbulos dentinários de uma nova medicação intracanal à base silicato de cálcio (Bio-C Temp) em comparação à pasta à base de hidróxido de cálcio (Ultracal XS) e verificar a citotoxicidade do Bio-C Temp. **Metodologia:** Para avaliação do pH e liberação de íons cálcio (1, 24,72 e 168 horas), cinco espécimes para cada tempo experimental de cada grupo foram imersos em 10 ml de água deionizada e armazenados à 37 °C para posterior avaliação em um pHmetro digital e espectrofotômetro, respectivamente. Para avaliação da radiopacidade foi seguida a recomendação ISO 6876:2012. A citotoxicidade foi avaliada pela porcentagem de viabilidade celular, utilizando o ensaio MTT. Imagens da penetração dos materiais nos túbulos dentinários foram obtidas por microscopia confocal de varredura a laser (MCVL). Dados de pH e liberação de íons cálcio e citotoxicidade foram analisados estatisticamente por análise de variância uma via e teste *post hoc* de *Tukey*. A radiopacidade foi analisada usando o teste t de *Student*. A penetração nos túbulos dentinários foi realizada através de uma análise descritiva. **Resultados:** Os materiais apresentaram pH alcalino em todos os tempos experimentais. Os valores de pH da pasta de hidróxido de cálcio foram maiores que a pasta biocerâmica em 1, 24 e 72 horas ( $P < 0,05$ ). A liberação de cálcio do material biocerâmico foi menor que a da pasta de hidróxido de cálcio somente em 24 horas ( $P < 0,05$ ). A pasta biocerâmica foi mais radiopaca do que a pasta de hidróxido de cálcio ( $P < 0,05$ ). Os resultados do ensaio MTT demonstraram que a pasta biocerâmica apresentou dose e efeito citotóxico dependente do tempo. Imagens de MCVL mostraram o Bio-C Temp e o Ultracal XS em torno da parede do canal radicular com ausência de penetração tubular. **Conclusões:** O novo material à base de silicato de cálcio apresentou as propriedades físico-químicas estudadas compatíveis para ser empregada como medicação intracanal. O Bio-C Temp apresentou uma dose e efeito citotóxico dependente do tempo, com ausência de penetração no túbulo dentinário.

**Palavras-Chave:** Endodontia, biocerâmico, silicato de cálcio, citotoxicidade, propriedades físico-químicas, medicação intracanal.

## ABSTRACT

**Aim:** This study aimed to evaluate pH, calcium ion release, radiopacity and dentinal tubule penetration of a new calcium silicate-based intracanal dressing (Bio-C Temp) to comparison a calcium hydroxide-based material (Ultracal XS) and to verify the Bio-C Temp cytotoxicity. **Methodology:** For pH and calcium ion release evaluation (1, 24, 72 and 168 hours), five specimens for each experimental time from each group were immersed in 10 mL of deionized water and stored at 37° C for further evaluation with a digital ph meter and spectrophotometer, respectively. For radiopacity evaluation, followed ISO 6876:2012 recommendation. Cytotoxicity was evaluated by the percentage of cell viability, using MTT assay. Illustrative images of dentinal tubule penetration were obtained using confocal laser scanning microscopy (CLSM). Data from pH calcium ion release and cytotoxicity were statistically analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc test. Radiopacity was analyzed using Student t-test. The dentinal tubule penetration had a descriptive analysis. **Results:** Both materials showed alkaline pH in all experimental times. The pH values for calcium hydroxide paste were higher than bioceramic paste at 1, 24, and 72 hours ( $P<0.05$ ). The calcium release of bioceramic material was lower than the calcium hydroxide paste at 24 hours only ( $P<0.05$ ). The bioceramic paste was more radiopaque than the calcium hydroxide paste ( $P<0.05$ ). The MTT assay results demonstrated that the bioceramic paste presented a dose and time-dependent cytotoxic effect. CLSM images showed the Bio-C Temp and the Ultracal XS surrounding the root canal wall with absence of tubule penetration. **Conclusions:** The new calcium silicate-based material presented physicochemical properties compatible with an adequate intracanal dressing. Bio-C Temp presented a dose and time-dependent cytotoxic effect with absence of dentinal tubule penetration.

**Keywords** – Endodontics, bioceramic, calcium silicate, cytotoxicity, physicochemical properties, root canal dressing



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

**%** - porcentagem

**ATCC** - American Type Culture Collection

**C<sub>o</sub>** - graus Celsius

**Ca<sub>2+</sub>** - íon cálcio

**CLSM** - Microscopia confocal de varredura a laser

**cm<sub>2</sub>** - centímetro quadrado

**CO<sub>2</sub>** - dióxido de carbono

**DMEM** -- Meio de Eagle modificado por Dulbecco

**DMSO** – dimetil Sulfóxido

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**EDTA** – Ácido etilenodiaminotetracético

**Fluo 3** – indicador fluorescente de cálcio

**ISO** – Órgão Internacional de Padronização

**m<sub>2</sub>** - metro quadrado

**MCVL** - microscopia confocal de varredura a laser

**mg/mL** - miligrama por mililitro

**mL** - mililitros

**mm** - milímetro

**mmAl** - milímetro de alumínio

**MTA** - mineral trioxide aggregate/mineral trióxido agregado

**MTT** - brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio

**nm** - nanômetro

**OH-** - hidroxila

**pH** - potencial de hidrogênio, representação da escala na qual uma solução neutra é igual a 7

**UFRGS** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**µL** - microlitro

## **APRESENTAÇÃO**

Esta dissertação de mestrado contém como estrutura principal um artigo científico que está formatado nas normas do *International Endodontic Journal*.

Este estudo foi aprovado na Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Anexo 1) e Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – CEP-UFRGS (Anexo 2).

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Doação de Dentes se encontram como Apêndices 1 e 2 respectivamente.

## 1. INTRODUÇÃO

Em infecções de origem endodôntica, o objetivo do tratamento é obter a redução do número de bactérias presentes no canal radicular e impedir que novos microrganismos colonizem a região periapical, proporcionando assim, uma condição ideal para o reparo (NAIR et al., 2005). A presença de microrganismos no sistema de canais radiculares está diretamente relacionada ao estabelecimento da periodontite apical (SIQUEIRA; RÔÇAS, 2008; NAIR, 2014).

Sabe-se hoje que a presença de complexidades anatômicas, o acesso limitado dos instrumentos e das soluções irrigadoras podem favorecer a permanência de microrganismos organizados na forma de biofilme (NAIR et al., 2005; VERA et al., 2012).

Ricucci et al. (2009) conduziram um estudo retrospectivo em que examinaram histologicamente 24 dentes tratados endodonticamente com evidência de lesão periapical (12 dentes de pacientes assintomáticos e 12 dentes de pacientes sintomáticos) obtidos por extração ou cirurgia paraendodôntica. A presença de contaminação bacteriana foi evidenciada em todos os dentes, com exceção de uma amostra do grupo assintomático em que a possível causa da periodontite apical foi o extravasamento de material obturador. Os autores relataram que a colonização bacteriana intraradicular foi maior em ambos os grupos; apenas 5 amostras evidenciaram a ocorrência de bactéria extrarradicular somado à contaminação no conduto, indicando que a persistência bacteriana no canal radicular em áreas não afetadas pelos procedimentos químicos e mecânicos é a principal causa de periodontite apical pós-tratamento.

O preparo químico-mecânico e a obturação tridimensional do canal radicular promovem a redução desta microbiota (PEREIRA et al., 2018). A utilização de uma medicação intracanal reforça a ideia de otimizar a desinfecção, suplementando os procedimentos anteriormente citados (SIQUEIRA JR et al., 2007; ZANCAN et al., 2016; BARBOSA-RIBEIRO et al., 2018; MARTINHO et al., 2018).

## 1.1 Medicação intracanal

A microbiota endodôntica e seus subprodutos induzem uma resposta imunoinflamatória nos tecidos periapicais, promovendo reabsorção óssea, formação e manutenção de lesão periapical (KAKEHASHI et al. 1965). Isto explica porquê o preparo biomecânico e o uso de uma medicação intracanal são requeridos para reduzir a carga microbiana e, portanto, favorecerem os mecanismos de defesa do hospedeiro e promovendo um ambiente favorável para o reparo (SIQUEIRA; UZEDA, 1996).

A medicação intracanal tem um papel fundamental na obtenção da sanificação dos canais radiculares, colaborando para eliminar os microrganismos e inativar seus subprodutos (SAFAVI et al., 1990; SIQUEIRA, 2001; SAATCHI et al., 2014). Nesse sentido, vários medicamentos foram propostos ao longo dos anos para serem utilizados como medicação intracanal, sendo o hidróxido de cálcio o mais amplamente empregado.

## 1.2 Hidróxido de cálcio

O hidróxido de cálcio é um agente que possui diversas indicações e foi introduzido na Odontologia por Hermann, no ano de 1920 (FARHAD; ESFAHAN, 2005). Na categoria de medicação intracanal, é a mais comumente utilizada devido às suas propriedades antimicrobianas e biológicas (MOHAMMADI; DUMMER, 2011). Além disso, no intervalo entre as sessões do tratamento endodôntico, atua como uma barreira físico-química contra infecção e reinfecção por microrganismos da saliva (KUMAR et al., 2019). As qualidades desse material têm sido atribuídas à sua alcalinidade, com o pH do pó puro próximo a 12,5 e à liberação de íons cálcio e hidroxila em meio aquoso (SIQUEIRA; LOPES, 1999).

A sua atividade antimicrobiana está relacionada com a liberação de íons hidroxila, caracterizados por serem radicais livres de extrema reatividade frente a várias biomoléculas; estes, provocam danos à membrana citoplasmática bacteriana, desnaturaçã proteica e por fim, danos no DNA da célula (SIQUEIRA; LOPES, 1999). O grupo hidroxila proporciona um ambiente

alcalino que estimula o reparo e a calcificação (MOHAMMADI; DUMMER, 2011). De acordo com o estudo de Estrela et al. (1995), a alcalinidade do meio neutraliza o ácido lático dos osteoclastos e ativa as fosfatases alcalinas que participam na formação de tecidos duros. Somado a isto, este material quando combinado com determinados veículos, demonstra a capacidade de inibir o mecanismo de reabsorção radicular (DUARTE et al., 2012).

Leonardo et al. (2006) compararam o reparo periapical após realização de tratamento endodôntico em dentes de cães com lesão periapical em que foi utilizado o hidróxido de cálcio como medicação intracanal por determinados períodos (15, 30 e 180 dias) ou realizado a obturação em sessão única. De acordo com os resultados encontrados, no grupo em que foi realizada sessão única, não foi observado em nenhuma amostra formação de barreira apical e ficou evidenciada severa inflamação periapical. Nos grupos tratados com a medicação intracanal houve evidências de reparo tecidual periapical e o infiltrado de células inflamatórias mostrou-se menor (LEONARDO et al., 2006).

Corroborando com os resultados encontrados por Leonardo et al. (2006), Vera e colaboradores (2012) também observaram melhor *status* microbiológico do canal radicular quando utilizado o hidróxido de cálcio como medicação em relação à sessão única e estenderam seus achados relatando a presença de bactérias residuais comumente observadas e também em maior número em istmos, ramificações e túbulos dentinários de dentes tratados sem medicação.

Somado a estas propriedades físico-químicas e biológicas já analisadas, a radiopacidade da pasta é uma característica também estudada pois permite verificar o correto preenchimento do canal radicular e a manutenção da mesma. Nas medicações à base de hidróxido de cálcio encontramos radiopacificadores tais como o óxido de zinco, sulfato de bário e iodofórmio; além da importância anteriormente citada, esta característica merece atenção devido ao fato de que estes compostos químicos adicionados à pasta podem reagir com o hidróxido de cálcio, modificando propriedades físicas ou antimicrobianas (ORDINOLA-ZAPATA et al., 2015). Além disso, a citotoxicidade do hidróxido de cálcio têm sido avaliada ao longo dos anos e demonstrado resultados compatíveis com o uso clínico, sendo mais ou menos

citotóxico de acordo com o veículo e radiopacificador utilizado (ANDOLFATTO et al., 2012; SIMI JUNIOR et al., 2015 ;SILVA et al., 2019).

### 1.3 Materiais biocerâmicos

Em um passado muito recente surgiram os materiais biocerâmicos utilizados como cimento reparador (ProRoot MTA (Dentsply Sirona, York , PA, USA), MTA-Angelus (Angelus, Londrina, Paraná, Brasil), Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France), Generex A (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK, USA) e como cimentos obturadores do canal radicular (IRoot SP (Innovative Bioceramix Inc, Vancouver, Canada), IRoot BP Plus (Innovative Bioceramix Inc, Vancouver, Canada), Endosequence BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA, EUA), Sealer Plus BC, (MK Life, Porto Alegre, RS Brasil) . Esses materiais provêm do resultado da combinação entre silicato de cálcio e fosfato de cálcio. Em sua composição está descrito na literatura a alumínia, zircônia, vidro bioativo, cerâmica de vidro, hidroxiapatita e fosfato de cálcio.

Materiais biocerâmicos são cerâmicas designados para reparo e reconstrução nas áreas médica e odontológica (HENCH, 1991). De acordo com a cerâmica utilizada e a sua interação com o meio, esses materiais podem ser categorizados como bioinertes ou bioativos, sendo que os últimos podem ser reabsorvíveis ou não reabsorvíveis (BEST et al., 2008). Bioatividade é a capacidade do cimento durante o processo de presa de formar hidroxiapatita e assim, influenciar na ligação entre a dentina e o cimento endodôntico (LOUSHINE et al., 2011).

Na endodontia, destacam-se quando empregados como cimento à base de silicato de cálcio nos seguintes procedimentos: obturação do canal radicular (OLTRA et al., 2017; EL HACHEM et al., 2018); apicificação (VIDAL et al., 2016); revascularização pulpar (BAKHTIAR et al., 2017; CHANIOTIS et al., 2018); fratura radicular (CHANIOTIS, 2014); obturação retrógrada (CARON et al., 2014); tratamentos conservadores da polpa (MARTENS et al., 2015; TULOGLU; BAYRAK, 2016); perfurações e reabsorções (TORABINEJAD et al., 2018).

Os materiais biocerâmicos apresentam excelente biocompatibilidade devido à similaridade com a hidroxiapatita, são capazes de formar uma ligação química com a estrutura dentária, podem ser aplicados em ambientes úmidos promovendo um selamento adequado e apresentam uma boa radiopacidade (PRATI; GANDOLFI, 2015).

Dentre os materiais biocerâmicos o Agregado Trióxido Mineral (MTA) é considerado um material biocerâmico com uma base sólida de evidências científicas. O MTA foi introduzido na odontologia por Mahmoud Torabinejad no ano de 1993 e aprovado somente no ano de 1998 para uso endodôntico pela *Food and Drug Administration* (LEE et al., 1993). Seus principais componentes são o silicato tricálcio, aluminato tricálcio, óxido tricálcio e óxido de silicato, tendo também outros óxidos responsáveis por suas propriedades.

O crescente interesse nesses materiais evidencia-se também pelo desenvolvimento de uma nova medicação intracanal à base de silicato de cálcio, ainda não disponível comercialmente. O Bio-C Temp (Angelus Indústria de produtos odontológicos S/A), segundo o fabricante, é uma medicação intracanal empregada no tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar, retratamentos, lesões refratárias, exsudato e fístulas persistentes. Em sua composição química se faz presente o éster glicol salicilato, óxido de titânio, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, tungstênio de cálcio e silicato de cálcio.

Com o intuito de investigar algumas propriedades referentes a este material inédito, o estudo tem por objetivo avaliar o pH, liberação de íons cálcio, radiopacidade, e penetração nos túbulos dentinários de uma nova medicação intracanal à base silicato de cálcio (Bio-C Temp) em comparação a uma pasta à base de hidróxido de cálcio (Ultracal XS) e verificar a citotoxicidade do Bio-C Temp.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo é comparar as propriedades físico-químicas e penetração nos túbulos dentinários de duas pastas utilizadas como medicação intracanal (Ultracal XS e Bio-C Temp) e investigar a citotoxicidade de uma nova medicação à base de silicato de cálcio intitulada Bio-C Temp.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o pH das pastas Ultracal XS e Bio-C Temp nos períodos experimentais de 1, 24, 72 e 168 horas.
- Avaliar a liberação de íons cálcio das pastas testadas nos períodos de 1, 24, 72 e 168 horas através de um espectrofotômetro colorimétrico.
- Comparar a radiopacidade das pastas Ultracal XS e Bio-C Temp.
- Avaliar através da Microscopia Confocal de Varredura a Laser a penetração nos túbulos dentinários das duas medicações.
- Verificar a citotoxicidade da nova medicação intracanal (Bio-C Temp) pela porcentagem de viabilidade celular utilizando o ensaio de MTT.



### **3. ARTIGO CIENTÍFICO**

N. Villa<sup>1</sup>, V. V. Santos<sup>2</sup>, U. M. Costa<sup>3</sup>, A. T. Mendes<sup>1</sup>, J. R. Pereira<sup>4</sup>, M. V. R. Só<sup>1</sup>. A new calcium silicate-based root canal dressing: physical and chemical properties, dentinal tubule penetration and cytotoxicity. (Formatted according to the rules of the International Endodontics Journal).

**A new calcium silicate-based root canal dressing: physical and chemical properties, dentinal tubule penetration and cytotoxicity.**

N. Villa<sup>1</sup>, V. V. Santos<sup>2</sup>, U. M. Costa<sup>3</sup>, A. T. Mendes<sup>1</sup>, J. R. Pereira<sup>4</sup>, M. V. R. Sói.

**Abstract**

**Aim:** This study aimed to evaluate pH, calcium ion release, radiopacity and dentinal tubule penetration of a new calcium silicate-based intracanal dressing (Bio-C Temp) to comparison a calcium hydroxide-based material (Ultracal XS) and to verify the Bio-C Temp cytotoxicity. **Methodology:** For pH and calcium ion release evaluation (1, 24, 72 and 168 hours), five specimens from each group were immersed in 10 mL of deionized water and stored at 37° C. For radiopacity evaluation, followed ISO 6876:2012 recommendation. Cytotoxicity was evaluated by the percentage of cell viability, using MTT assay. Illustrative images of dentinal tubule penetration were obtained using confocal laser scanning microscopy (CLSM). Data from pH and calcium ion release were statistically analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc test. Radiopacity was analyzed using Student t-test. The statistical tests for cytotoxicity results were the one-way analysis of variance and the Tukey's multiple comparison test. The dentinal tubule penetration had a descriptive analysis. **Results:** Both materials showed alkaline pH in all experimental times. The pH values for calcium hydroxide paste were higher than bioceramic paste at 1, 24, and 72 hours ( $P<0.05$ ). The calcium release of bioceramic material was lower than the calcium hydroxide paste at 24 hours only ( $P<0.05$ ). The bioceramic paste was more radiopaque than the calcium hydroxide paste ( $P<0.05$ ). The MTT assay results demonstrated that the bioceramic paste presented a dose and time-dependent cytotoxic effect. CLSM images showed the Bio-C Temp and the Ultracal XS surrounding the root canal wall with absence of tubule penetration. **Conclusions:** The new calcium silicate-based material presented physicochemical properties compatible with an adequate intracanal dressing. Bio-C Temp presented a dose and time-dependent cytotoxic effect with absence of dentinal tubule penetration.

**Keywords** - Bioceramic, calcium silicate, cytotoxicity, physicochemical properties, root canal dressing

Authors:

<sup>1</sup> Department of Conservative Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Department of Post-Graduation in Environment and Health, University of the Catarina Plateau, Lages, SC, Brazil.

<sup>3</sup> Department of Veterinary Medicine, Santa Catarina State University, Lages, SC, Brazil.

<sup>4</sup> Department of Prosthodontics, University of Southern Santa Catarina, Tubarão, SC, Brazil.

## Introduction

The presence of microorganisms in the root canal system is directly related to the setting up of an apical periodontitis (Siqueira Jr. & Rôças 2008). The chemical and mechanical preparation and the three-dimensional root canal filling promote the reduction of this microbiota (Pereira *et al.* 2019). However, the presence of anatomical complexities may limit the access of instruments and irrigation solutions, which favors the permanence of microorganisms organized in biofilms (Vera *et al.* 2012). The employment of intracanal medication helps to optimize disinfection, supplementing the previously mentioned procedures (Zancan *et al.* 2016, Martinho *et al.* 2018).

Calcium hydroxide is the most commonly used medication. It has an alkaline pH (approximately 12.8), low solubility and adequate flow (Farhad & Mohammadi 2005). In an aqueous solution, this medication dissociates into calcium and hydroxyl ions; this mechanism is responsible for several biological properties which are attributed to this medication, such as antimicrobial action, induction of hard tissue deposition and inhibition of tooth reabsorption (Farhad & Mohammadi 2005). An adequate radiopacity is essential for verifying the correct placement and maintenance of the root canal dressing into the root canal and is achieved by the addition of substances such as zinc oxide, iodoformium and barium sulfate (Verma *et al.* 2018).

The bioceramic materials are designated for repair and reconstruction in the medical and dental areas (Hench 1991). They are widely recognized in Endodontics because they are employed as calcium silicate cement in procedures of root canal filling (El Hachem *et al.* 2019), apification (Vidal *et al.* 2016), revascularization therapy (Chanotis 2018), root end filling (Caron *et al.* 2014), conservative pulp treatments (Martens *et al.* 2015), perforations and resorptions (Torabinejad *et al.* 2018). They have excellent biocompatibility because of the similarity with hydroxyapatite. Furthermore, bioceramic materials are able to form a chemical bond with the dental structure and to be employed in humid environments. Besides, they promote hermetic sealing and present adequate radiopacity (Prati & Gandolfi 2015). The cytotoxicity of bioceramic endodontic sealers has been evaluated in some studies, showing different results from one type of material to another (Bin *et al.* 2012, Silva *et al.* 2013)

and different research are still contradictory even when referring to the same cement (Damas *et al.* 2011, Ma *et al.* 2011, Leal *et al.* 2013).

The growing interest regarding these materials is evidenced by the development of new bioactive calcium silicate-based medications. Bio-C Temp (Angelus Indústria de produtos odontológicos S/A) is a new intracanal dressing to be used in the endodontic treatment of teeth with pulp necrosis, retreatment, refractory lesions, persistent exudate and fistulas as described by the manufacturer. The chemical composition includes glycol salicylate, titanium oxide, calcium tungsten, calcium aluminate, calcium oxide and calcium silicate.

This study aims to evaluate pH, calcium ion release, radiopacity and dentinal tubule penetration of a new calcium silicate-based intracanal dressing (Bio-C Temp) to comparison a calcium hydroxide-based material (Ultracal XS) and to verify the Bio-C Temp cytotoxicity. The tested hypothesis was that the materials tested would present similar properties at the evaluations.

## **Material and Methods**

A calcium silicate-based intracanal dressing (Bio-C Temp - Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A) and a calcium hydroxide-based intracanal dressing (Ultracal XS - UltraDent Product, Inc.) were tested and compared regarding some physicochemical properties. The calcium hydroxide-based material was used as the control group. Both pastes were presented in a pre-filled multidose syringe with specific tips. An analytical balance (BEL Engineering – Milano, Italy) was employed to weigh each paste according to the test to be performed.

### **pH**

In order to determine the pH and calcium ions release of the studied intracanal dressings, five specimens for each experimental time of each group (n=5) were produced at polyethylene tubes (length of 10 mm and an internal diameter of 1.0 mm) with a closed end (Candeiro *et al.* 2012). The pastes were inserted into the tubes using 1 mL syringes up to the complete fulfillment. Each specimen was placed in a flask containing 10 mL deionized water and stored at 37° C. The pH assessment was performed after 1, 24, 72, and 168 hours of

immersion. Previous to the readings, the paste samples were removed from the flasks, and the solutions were manually agitated for 5 seconds. The pH was measured with a digital pH meter (Digimed DM-22, São Paulo, SP, Brazil) previously calibrated with solutions whose pH is already known. The control for this method was performed by a reading of the pH values of deionized water in which no samples were immersed.

### **Calcium ion release**

The evaluation of calcium ion release was performed at the same experimental periods used for pH analysis (1, 24, 72, and 168 hours). The calcium levels contained in the collected samples were analyzed with a colorimetric method employing the arsenazo III (Vogel *et al.* 1993).

### **Radiopacity**

Following the International Standard Organization (ISO) 6876:2012 recommendation, three specimens (n=3) were produced for each group. The medications were introduced into a matrix of 10 mm of diameter and 1 mm of height for sample production. Following that, the samples were laterally positioned on both sides of a digital sensor (RVG 5200 – Carestream Health, NY, USA) close to an aluminum scale which was centrally placed. This scale thickness ranged from 0.5 mm to 5 mm. The next step was the radiography procedures using a Timex 70E X-ray device (Saevo, Ribeirão Preto, SP, Brazil) with an exposure time of 0.1 seconds. Images were analyzed with ImageJ software (Research Services Branch, National Institutes of Mental Health, Bethesda, MD, EUA). The gray levels (pixel densities) of the aluminum scale and a 1.5 mm<sup>2</sup> standardized area in the center of the samples were calculated regarding their mean values and standard deviations. The radiopacity value was determined according to the radiographic density, which was also converted into millimeters of aluminum (mm Al).

### **Cytotoxicity**

VERO Cell lines, from American Type Culture Collection (ATCC), were maintained in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Sigma-Aldrich) supplemented with 10% fetal bovine serum (Invitrogen) and antibiotics (1%

penicillin-streptomycin-gentomycin - Invitrogen) in 75-cm<sup>2</sup> culture flasks in a humidified atmosphere at 37°C and 5% CO<sub>2</sub>.

#### *Extract preparation*

The extract was prepared as recommended by ISO 10993-5 where 100 mg of Bio-C Temp was added to 1mL of DMEM medium with 5% of fetal bovine serum. The material was vortexed until completely suspended, then incubated for 24 hours at 37°C. The solution was filtered in a 0.22 µm filter, and a serial dilution was performed in DMEM with serum for final concentrations of 50mg/mL, 25mg/mL, 12.5mg/mL, 6.25 mg/mL, 3.125 mg/mL and 1.5625 mg/mL.

#### *Cytotoxicity measurements by the MTT technique*

The cytotoxicity of Bio-C Temp was evaluated by the percentage of cell viability, using the 3-(4,5-dimethylthiazolyl-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The cells 1x10<sup>5</sup> cells/well were seeded in a 96-well plate with 100 µL DMEM complete medium. After 24 hours of incubation, the supernatant was replaced by different concentrations of Bio-C Temp extract (100 µL) and incubated in standard culture conditions for 8 or 24 hours. Negative control cells were incubated only with DMEM complete medium. After this period, the medium was removed, and 50 µL MTT (5 mg/mL in DMEM) was added to each well and incubated for 2 hours at 37 °C. Then, 100 µL dimethyl sulfoxide (DMSO) was added to each well to dissolve formazan crystals. The optical absorption was read at 490 nm wavelength, and the graph confection was performed using GraphPad Prism version 7.0 for Windows (GraphPad Software). All experiments were conducted in triplicate.

For cytotoxicity evaluation the parameters described by Dahl et al. (Dahl *et al.* 2006) were applied in which cell viability was compared with control, and the result was defined in different categories as non-cytotoxic (>90% cell viability); slightly cytotoxic (60–90%); moderately cytotoxic (30–59%); and strongly cytotoxic (<30%).

### **Dentinal Tubule Penetration**

The dentinal tubule penetration was evaluated through confocal laser scanning microscopy (CLSM). Fourteen mandibular human incisors were selected. The access cavities were performed with #1012 diamond burs, the working length was established, and root canal preparation was carried out with WaveOne Gold # 35.06 reciprocating system. During the preparation, the root canal was irrigated with 5 mL of 2.5% sodium hypochlorite using a syringe with 30 diameter needle (Navitip; Ultradent Products Inc.). After that, the final irrigation protocol was done: the root canal was irrigated with 5 mL of 2.5% sodium hypochlorite using a syringe with 30 diameter needle (Navitip; Ultradent Products Inc.); next, the root canal was rinsed with 5 mL of 0.9% saline solution and 2 mL of 17% EDTA (Maquira, Maringá, Paraná, Brazil). The EDTA was stirred for 3 minutes with a size 20 K-file (Dentsply-Sirona, Ballaigues, Switzerland). Final rinse with 2 mL of 0.9% saline solution was performed one more time. The canals were dried with WaveOne # 35.06 sterile paper points and the access cavities were then filled with CAVIT (ESPE, Seefeld, Germany). The roots were randomly distributed in two groups: Ultracal XS (n=7) and Bio-C Temp (n=7). Fluorescent calcium indicator (Fluo 3 - Thermo Fisher Scientific, USA) was added to the intracanal dressings in order to provide fluorescence in the CLSM. The Ultracal XS and Bio-C Temp were inserted into the canals with a Lentulo spiral. Finally, the specimens were transversally sectioned at 2mm, 7mm and 12 mm from the root apex. The illustrative images of dentinal tubule penetration were obtained through CLSM.

### **Statistical Analysis**

Data from the pH, calcium release, radiopacity, and MTT assay were analyzed using SPSS version 22.0 statistical software (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). The pH and calcium ion release values along the experimental times were statistically compared using one-way analysis of variance and Tukey post hoc test. The pairwise comparison of pH and calcium ion release values between both pastes in each experimental time was performed using Student-T test. Radiopacity was analyzed using Student-T test. Cytotoxicity results were statistically compared using one-way analysis of variance and Tukey's multiple



comparison test. The significance level was set at 5%. The dentinal tubule penetration had a descriptive analysis.

## Results

The pH values for calcium silicate-based material increased over the experimental period, with differences in relation to the calcium hydroxide paste at the period of 1, 24, and 72 hours ( $P < 0.05$ ). In the intra-group analysis, the Bio-C Temp showed similar pH values only at 72 and 168 hours, while the Ultracal paste presented a difference at 72 hours when compared to the other experimental periods ( $P < 0.05$ ). Table 1 presents the means and standard deviation of the pH values.

Table 1 – Means and standard deviation of the pH values and calcium ion release (mg/L).

	1 hour	24 hours	72 hours	168 hours
Ultracal XS pH	10.23 <sub>Aa</sub> ± 0.27	10.69 <sub>ABa</sub> ± 0.18	11.60 <sub>Ca</sub> ± 0.1	11.01 <sub>Ba</sub> ± 0.50
Ultracal XS Ca <sup>+</sup>	221.97 <sub>Aa</sub> ± 73.52	314.09 <sub>Ba</sub> ± 2.72	308.33 <sub>Ba</sub> ± 6.83	313.89 <sub>Ba</sub> ± 2.46
Bio-C Temp pH	8.57 <sub>Ab</sub> ± 0.60	9.66 <sub>Bb</sub> ± 0.32	10.69 <sub>Cb</sub> ± 0.16	10.79 <sub>Ca</sub> ± 0.11
Bio-C Temp Ca <sup>+</sup>	152.08 <sub>Aa</sub> ± 52.11	298.40 <sub>Bb</sub> ± 11.56	312.94 <sub>Ba</sub> ± 5.57	313.89 <sub>Ba</sub> ± 4.81

Footnote: Equal capital letters in the row do not differ statistically by One-Way ANOVA and Tukey's post-hoc. Same lowercase letters in the column do not differ statistically by Student's T Test. The significance level of 5%.

The Bio-C Temp presented an increasing calcium release pattern and, at 1 hour, a significant difference had occurred in relation to the other experimental periods ( $P < 0.05$ ). At the intergroup analysis, the calcium release of bioceramic material was lower than the calcium hydroxide paste only in 24 hours ( $P < 0.05$ ). The values of calcium ion release are presented in Table 1. Additionally, the bioceramic material was significantly more radiopaque than the calcium hydroxide paste ( $P < 0.05$ ) (Table 2).

Table 2 – Means and standard deviation of the radiopacity (mm/Al).

Radiopacity	
Ultracal XS	5.1233 <sup>A</sup> ± 0.5408
Bio-C Temp	7.1500 <sup>B</sup> ± 0.7502

Footnote: Different capital letters in the column are statistically different at the Student's T-Test. The significance level of 5%.

The MTT assay results showed that Bio-C-Temp presented a cytotoxic effect in a dose and time-dependent manner (Figure 1 A and B). After 8 hours of treatment, the doses of 100 mg/mL ( $51.85 \pm 3.80$ ) and 50 mg/mL ( $42.27 \pm 0.67$ ) presented a moderate cytotoxicity, and the doses of 25 mg/mL ( $68.58 \pm 3.04$ ) and 12.5 mg/mL ( $79.44 \pm 2.70$ ) a slightly cytotoxic effect ( $P < 0.05$ ). Moreover, cells treated with Bio-C-Temp after 24 hours of incubation presented a strong cytotoxic effect at the doses of 100 mg/mL ( $14.58 \pm 0.35$ ), 50 mg/mL ( $10.49 \pm 0.30$ ), and 25 mg/mL ( $19.42 \pm 0.78$ ) ( $P < 0.05$ ). In contrast, the concentration of 12.5 mg/mL ( $60.66 \pm 0.51$ ), 6.5 mg/mL ( $70.52 \pm 0.12$ ), 3.12 mg/mL ( $83.87 \pm 2.01$ ) demonstrated a slight cytotoxic effect ( $P < 0.05$ ).

CLSM images showed the bioceramic material surrounding the root canal wall with absence of tubule penetration (Figure 2 A, B, C).

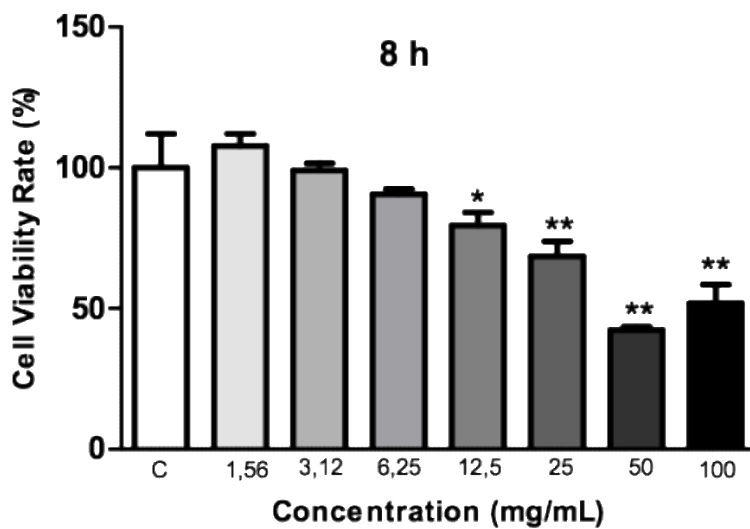
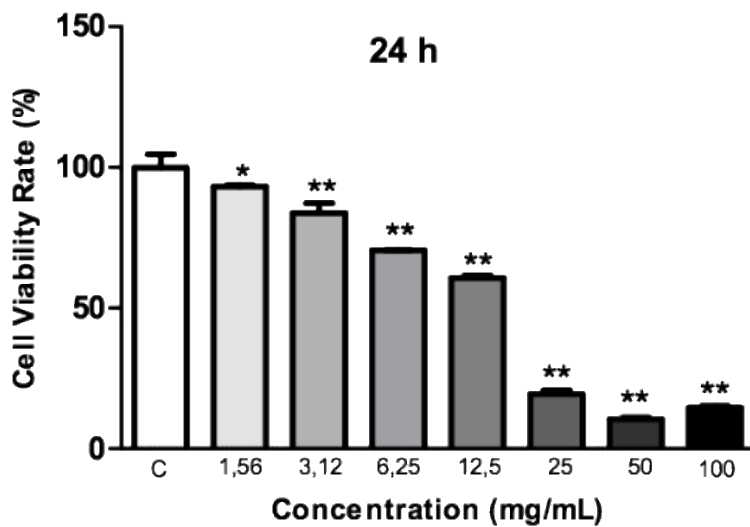
**(a)****(b)**

Figure 1 A and B: The viability of VERO cells exposed to 8 and 24-hours extracts of Bio-C Temp. Cytotoxicity was determined by the MTT assay, and the data represent the average percentage of cell viability in three independent experiments conducted in triplicate. (\*\* P < 0.0001 and \* P < 0.01)

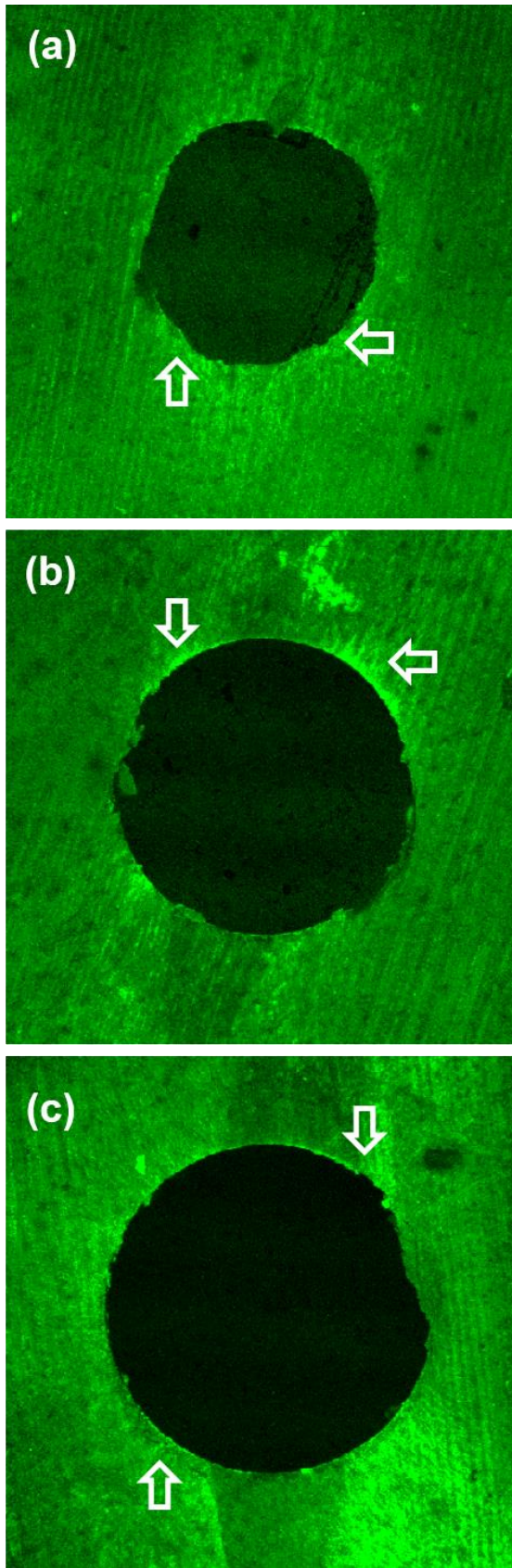


Figure 2 A, B and C: absence of tubule penetration.

## Discussion

The materials tested in this study represent two types of root canal dressing of different bases, namely Bio-C Temp and Ultracal XS. Calcium hydroxide, the main base of Ultracal XS, was included in this study as a control group because it was considered the most commonly employed medication to complement the chemical-mechanical preparation of the root canal. The bioceramic materials were developed to set and harden into a cohesive whole in the presence of moisture. On the other hand, Bio-C Temp, which also contains bioceramic particles, is a temporary material, intended to be removed after a period of time. In this sense, according to the manufacturer, the calcium silicate particles will hydrate in the presence water forming the hydrated calcium silicate on the particle surface, however, polymeric chains present in the product will hinder the connectivity of the hydrated particles, thus restricting the hardening of the material.

This material contains tricalcium silicate, dicalcium silicate and calcium oxide. These components when hydrated in the oral environment form calcium hydroxide according to the following equations:



Calcium hydroxide formation occurs and rapidly it dissociates into  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{OH}^-$  ions increasing the pH of the medium. Nevertheless, the low solubility of calcium hydroxide is of clinical importance, as it is responsible for the slow release of  $\text{OH}^-$  ions and the very low resorption of the material. The released hydroxyl ions are the most important species of calcium hydroxide, as they are responsible for a significant increase in the pH levels in the surrounding tissue and therefore acting as a disinfectant agent against bacteria proliferation.

Calcium silicate-based materials, after contact with the dentin wall dampness, generate calcium hydroxide as the product. This calcium hydroxide when dissociated will react with the phosphate ions from the dentin, and they form a mineral zone infiltration (Khalil *et al.* 2016).

We highlight that the test material of this study has not yet been studied and it is the first calcium silicate-based material presented as a root canal dressing. This demonstrates the novelty of the work as well the need to study its physical and chemical properties.

The tested hypothesis was rejected since significant differences were observed for pH, calcium release, and radiopacity between the medications studied. Bio-C Temp presented pH values that were increasing over the experimental period, differing from calcium hydroxide with lower values at the periods of 1, 24, and 72 hours ( $P < 0.05$ ). The pH results for Ultracal XS in this study were similar to the findings of other research (Só *et al.* 2005). At all experimental periods, both medications were alkaline. The alkaline pH may favor the elimination of several microbial specimens commonly found in infected root canals (Siqueira Jr & Uzeda 1998, Zancan *et al.* 2016). It is also suggested that the alkaline pH, together with the calcium ion release capacity, promotes the mechanism of repair stimulation by deposition of mineralized tissue (Okabe *et al.* 2006).

The calcium silicate-based paste presented an increasing release of calcium hydroxide ion at all experimental periods and exhibited a significant difference at 1 hour ( $P < 0.05$ ). When compared with the control group, calcium silicate-based paste demonstrated a lower release pattern at 24 hours ( $P < 0.05$ ). It may be inferred that the calcium release of the materials is very important for their microbiological and biological properties (Duarte *et al.* 2000). The calcium reacts with the carbon dioxide, reducing the respiration source of anaerobic bacteria (Kontakiotis *et al.* 1995). According to Parirokh and Torabinejad (Parirokh & Torabinejad 2010), the presence of calcium may favor alkaline pH, providing a biochemical effect which is responsible for accelerating the healing process.

Radiopacity is an essential feature for intracanal dressings because it allows the visualization of the root canal filling and of the paste solubilization over time. As there is no ISO standard to verify the intracanal medication

radiopacity, the protocol of the tests was based on ISO 6876:2012 for the present study, designed for root canal filling materials. In this research, the calcium silicate-based paste showed to be significantly more radiopaque than the calcium hydroxide paste, with values equivalent to 7.15 mmAl and 5.12 mmAl, respectively. The difference can be explained by the titanium oxide used as radiopacifier in Bio-C Temp.

Several studies focused on a calcium silicate formulation to be part of the composition of bioceramic root canal sealers. These researches demonstrated several positive properties and promising clinical results (Leal *et al.* 2013, Prati & Gandolfi 2015, Torabinejad *et al.* 2018). Tricalcium silicate-based sealers have been recently used in direct pulp capping, to perform partial pulpotomies and to promote root formation in young teeth with open apex (Prati & Gandolfi 2015). In previous studies, it was demonstrated that MTA is not genotoxic or cytotoxic to dental pulp cells, apical papilla cells, or human mesenchymal cells (Bortoluzzi *et al.* 2015, Peters *et al.* 2016).

Different methods have been proposed to estimate in vitro cytotoxicity of endodontic materials. In the present study, the reduction of MTT by active cells showed a cytotoxic effect of Bio-C Temp. This toxicity could be a response to the high alkalinity since the calcium ion produces a positive effect on cell proliferation (Badole *et al.* 2013). The calcium ions release and the alkalization of the medium contribute for antibacterial properties (Mendes *et al.* 2018).

According to the MTT results, Bio-C Temp presented higher cytotoxicity at higher concentrations and slight cytotoxicity at lower concentrations in both periods (8 and 24 hours). Therefore, the Bio-C Temp cell viability was dose time-dependent. The results of this study cannot be compared with other studies because the calcium silicate-based root canal dressing used in our study is new and was not yet tested by other research.

Fluo 3 is a non-fluorescent compound, even though fluorescence significantly increases after binding to calcium (Paredes *et al.* 2008). The calcium present in the calcium silicate intracanal dressing binds to Fluo 3 and, consequently, the fluorescence observed at microscopy belongs bioceramic material. The present study investigated the penetrability of Bio-C Temp and the Ultracal XS inside dentinal tubule from human mandibular incisors. To our knowledge, only one study (Jeong *et al.* 2016) has used Fluo 3 associated with

calcium silicate-based sealers and posterior assessment at CLSM. Therefore, Fluo 3 may be the fluorophore of choice when the chemical element calcium is present. CLSM produces light at a specific wavelength (488-600nm); the fluorophore is capable of increasing its fluorescence up to 6 times depending on calcium quantity (Paredes *et al.* 2008). Furthermore, it was initially created to detect gradients of intracellular calcium ions through CLSM and for flow cytometry in biochemistry (Kao *et al.* 1989, Minta *et al.* 1989). It is worth emphasizing that Fluo 3 is not able to detect calcium ions from dental structure; therefore, the obtained results consist only from calcium on bioceramic material composition (Jeong *et al.* 2016). In this study, it was not observed dentinal tubule penetration of the calcium silicate-based intracanal dressing and of the Ultracal XS, only its presence at the periphery of the root canal (arrows in the Figure 2).

## Conclusions

In terms of the physicochemical properties studied, the new calcium silicate-based material (Bio-C Temp) presented results which are compatible with an adequate intracanal dressing to be employed. Moreover, it presented a dose and time-dependent cytotoxic effect. Finally, CLSM showed Bio-C Temp and Ultracal XS surrounding the canal perimeter but with no tubule penetration.

## References

- Badole GP, Warhadpande MM, Meshram GK, et al. (2013) A comparative evaluation of cytotoxicity of root canal sealers: an *in vitro* study. *Restorative Dentistry and Endodontics* **38**, 204-9.
- Bin CV, Valera MC, Camargo SEA, et al. (2012) Cytotoxicity and Genotoxicity of Root Canal Sealers Based on Mineral Trioxide Aggregate. *Journal of Endodontics* **38**, 495–500.
- Bortoluzzi EA, Niu L, Palani CD, et al. (2015) Cytotoxicity and osteogenic potential of silicate calcium cements as potential protective materials for pulpal revascularization. *Dental Materials* **31**, 1510–22.
- Candeiro GT de M, Correia FC, Duarte MAH, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G



(2012) Evaluation of Radiopacity, pH, Release of Calcium Ions, and Flow of a Bioceramic Root Canal Sealer. *Journal of Endodontics* **38**, 842–5.

Caron G, Azérad J, Faure M-O, Machtou P, Boucher Y (2014) Use of a new retrograde filling material (Biodentine) for endodontic surgery: two case reports. *International Journal of Oral Science* **6**, 250–3.

Chaniotis A (2018) Orthodontic Movement after Regenerative Endodontic Procedure: Case Report and Long-term Observations. *Journal of Endodontics* **44**, 432–7.

Dahl JE, Frangou-Polyzois MJ, Polyzois GL (2006) In vitro biocompatibility of denture relining materials. *Gerodontology* **23**, 17–22.

Damas BA, Wheeler MA, Bringas JS, Hoen MM (2011) Cytotoxicity Comparison of Mineral Trioxide Aggregates and EndoSequence Bioceramic Root Repair Materials. *Journal of Endodontics* **37**, 372–5.

Duarte M, Demarchi AC, Giaxa MH, Kuga MC, Fraga SC, de Souza LC (2000) Evaluation of pH and Calcium Ion Release of Three Root Canal Sealers. *Journal of Endodontics* **26**, 389–90.

El Hachem R, Khalil I, Le Brun G, et al. (2018) Dentinal tubule penetration of AH Plus, BC Sealer and a novel tricalcium silicate sealer: a confocal laser scanning microscopy study. *Clinical Oral Investigations* **23**, 1871-76.

Farhad A, Mohammadi Z (2005) Calcium hydroxide: a review. *International Dental Journal* **55**, 293–01.

Hench LL. Bioceramics: From Concept to Clinic (1991) *Journal of the American Ceramic Society* **74**, 1487–510.

Kao JP, Harootunian AT, Tsien RY (1989) Photochemically generated cytosolic calcium pulses and their detection by fluo-3. *The Journal of Biological Chemistry* **264**, 8179–84.

Khalil I, Naaman A, Camilleri J (2016) Properties of Tricalcium Silicate Sealers. *Journal of Endodontics* **42**, 1529–35.

Jeong JW, DeGraft-Johnson A, Dorn SO, Di Fiore PM (2016) Dentinal Tubule

Penetration of a Calcium Silicate-based Root Canal Sealer with Different Obturation Methods. *Journal of Endodontics* **43**, 633-637.

Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M (1995) In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *International Endodontic Journal* **28**, 285–9.

Leal F, De-Deus G, Brandao C, Luna A, Souza E, Fidel S (2013) Similar Sealability Between Bioceramic Putty Ready-To-Use Repair Cement and White MTA. *Brazilian Dental Journal* **24**, 362–6.

Leal F, De-Deus G, Brandão C, Luna AS, Fidel SR, Souza EM (2011) Comparison of the root-end seal provided by bioceramic repair cements and White MTA: Similar leakage between bioceramic cements and MTA. *International Endodontic Journal* **44**, 662–8.

Ma J, Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M (2011) Biocompatibility of Two Novel Root Repair Materials. *Journal of Endodontics* **37**, 793–8.

Martens L, Rajasekharan S, Cauwels R (2015) Pulp management after traumatic injuries with a tricalcium silicate-based cement (Biodentine™): a report of two cases, up to 48 months follow-up. *European Archives of Paediatric Dentistry* **16**, 491–6.

Martinho FC, Gomes CC, Nascimento GG, Gomes APM, Leite FRM (2018) Clinical comparison of the effectiveness of 7- and 14-day intracanal medications in root canal disinfection and inflammatory cytokines. *Clinical Oral Investigations* **22**, 523–30.

Mendes AT, Silva PB, Só BB, et al. (2018) Evaluation of Physicochemical Properties of New Calcium Silicate-Based Sealer. *Brazilian Dental Journal* **29**, 536–40.

Minta A, Kao JP, Tsien RY (1989) Fluorescent indicators for cytosolic calcium based on rhodamine and fluorescein chromophores. *The Journal of Biological Chemistry* **264**, 8171–8.

Okabe T, Sakamoto M, Takeuchi H, Matsushima K (2006) Effects of pH on

Mineralization Ability of Human Dental Pulp Cells. *Journal of Endodontics* **32**, 198–201.

Paredes RM, Etzler JC, Watts LT, et al. (2008) Chemical calcium indicators. *Methods* **46**, 143–51.

Parirokh M, Torabinejad M (2010) Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. *Journal of Endodontics* **36**, 16–27.

Pereira TC, da Silva Munhoz Vasconcelos LR, Graeff MSZ, Ribeiro MCM, Duarte MAH, de Andrade FB (2019) Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. *Clinical Oral Investigations* **23**, 1253-62.

Peters OA, Galicia J, Arias A, Tolar M, Ng E, Shin SJ (2016) Effects of two calcium silicate cements on cell viability, angiogenic growth factor release and related gene expression in stem cells from the apical papilla. *International Endodontic Journal* **49**, 1132–40.

Prati C, Gandolfi MG (2015) Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. *Dental Materials* **31**, 351–70.

Silva EJNL, Rosa TP, Herrera DR, Jacinto RC, Gomes BPF, Zaia AA (2013). Evaluation of Cytotoxicity and Physicochemical Properties of Calcium Silicate-based Endodontic Sealer MTA Fillapex *Journal of Endodontics* **39**, 274–7.

Siqueira Jr JF, Uzeda M (1998) Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* **24**, 663–5.

Siqueira Jr. JF, Rôças IN (2008) Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. *Journal of Endodontics* **34**, 1291-01.

Só MVR, da Silva LAB, Figueiredo JAP, Prochnow E (2005) Calcium hydroxide pastes: pH values and release of calcium ions. *Italian Endodontic Journal* **19**, 235–8.

Torabinejad M, Parirokh M, Dummer PMH (2018) Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part II: other clinical applications and complications. *International Endodontic Journal* **51**, 284–17.

Vera J, Siqueira JF, Ricucci D, et al. (2012) One- versus Two-visit Endodontic Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Histobacteriologic Study. *Journal of Endodontics* **38**, 1040–52.

Verma R, Fischer BI, Gregory RL, Yassen GH (2018) The Radiopacity and Antimicrobial Properties of Different Radiopaque Double Antibiotic Pastes Used in Regenerative Endodontics. *Journal of Endodontics* **44**, 1376–80.

Vidal K, Martin G, Lozano O, Salas M, Trigueros J, Aguilar G (2016) Apical Closure in Apexification: A Review and Case Report of Apexification Treatment of an Immature Permanent Tooth with Biodentine. *Journal of Endodontics* **42**, 730–4.

Vogel GL, Chow LC, Brown WE (1993) A Microanalytical Procedure for the Determination of Calcium, Phosphate and Fluoride in Enamel Biopsy Samples. *Caries Research* **17**, 23–31.

Zancan RF, Vivian RR, Milanda Lopes MR, et al. (2016) Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. *Journal of Endodontics* **42**, 1822–8.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das condições experimentais, os resultados deste estudo no que concerne às propriedades físico-químicas analisadas nos permitem concluir que o novo material à base de silicato de cálcio (Bio-C Temp) apresentou resultados compatíveis com uma adequada medicação intracanal.

Apesar de ter havido diferenças entre os grupos no pH, liberação de cálcio e radiopacidade, rejeitando assim a hipótese nula, destaca-se que ambos os materiais se apresentaram alcalinos em todos os tempos experimentais; dessa forma, as duas medicações possuem condições de eliminar um conjunto de microrganismos encontrados no canal radicular. Da mesma forma, no teste de liberação de cálcio, a diferença foi observada apenas no tempo de 1 hora. Considerando que a medicação intracanal permanece por vezes, um período de 15 dias para se obter bons níveis de desinfecção, o Bio-C Temp apresentou condições favoráveis para aplicabilidade clínica.

A radiopacidade da nova pasta foi significativamente superior à apresentada pelo Ultracal XS; sabe-se que o hidróxido de cálcio combinado com diferentes veículos não apresenta radiopacidade adequada, fazendo-se necessário adicionar substâncias radiopacificadoras. Estes compostos químicos podem modificar propriedades físicas e antimicrobianas do material. Sendo assim, o material ideal deve equilibrar os tópicos relatados, apresentando uma radiopacidade aceitável para que se possa avaliar o preenchimento do canal radicular e a solubilidade da pasta interferindo o mínimo possível nas qualidades objetivadas pela medicação.

As pastas de hidróxido de cálcio induzem uma reação inflamatória nos 7 primeiros dias, com áreas de necrose superficial. Com o passar do tempo, o processo inflamatório reduz e as células necróticas induzem a migração de células que favorecem o reparo. No caso, a alcalinidade do material é responsável por esse mecanismo. Ainda não existem testes de biocompatibilidade com o Bio C Temp. O Bio-C Temp apresentou um efeito citotóxico dependente da dose e do tempo, e os resultados desse estudo mostraram que a citotoxicidade diminuiu com o passar do tempo.

Ambas as medicações intracanal não apresentaram penetrabilidade no túbulo dentinário. Esta característica visa a maior redução microbiana, especialmente de bactérias residuais. Outros estudos já haviam demonstrado a penetração limitada do hidróxido de cálcio, porém, utilizando metodologias diferentes. É relevante lembrar que caso ocorresse a penetração intratubular da medicação o processo de remoção da pasta possivelmente ficaria dificultado e este é indispensável para que, no momento da obturação do contudo, possa ocorrer a penetrabilidade do cimento endodôntico no túbulo dentinário e o selamento hermético do canal radicular.

Este trabalho não põe fim ao estudo dessa nova formulação de medicação intracanal, sendo necessário muitos estudos complementares, mas descortina um amplo campo de investigação para que se possa indicar clinicamente, como curativo de demora, esse produto à base de silicato de cálcio.

## REFERÊNCIAS

ANDOLFATTO, C.; DA SILVA, G. F.; CORNELIO, A. L.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M. *et al.* Biocompatibility of intracanal medications based on calcium hydroxide. **ISRN Dent**, p. 904963, 2012.

BAKHTIAR, H.; ESMAEILI, S.; FAKHR TABATABAYI, S.; ELLINI, M. R. *et al.* Second-generation Platelet Concentrate (Platelet-rich Fibrin) as a Scaffold in Regenerative Endodontics: A Case Series. **J Endod**, 43, n. 3, p. 401-408, Mar 2017.

BARBOSA-RIBEIRO, M.; ARRUDA-VASCONCELOS, R.; DE-JESUS-SOARES, A.; ZAIA, A. A. *et al.* Effectiveness of calcium hydroxide-based intracanal medication on infectious/inflammatory contents in teeth with post-treatment apical periodontitis. **Clin Oral Investig**, 23, n. 6, p. 2759-2766, Jun 2019.

BEST, S. M.; PORTER, A. E.; THIAN, E. S.; HUANG, J. Bioceramics: Past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, 28, n. 7, p. 1319-1327, 2008.

CARON, G.; AZERAD, J.; FAURE, M. O.; MACHTOU, P. *et al.* Use of a new retrograde filling material (Biodentine) for endodontic surgery: two case reports. **Int J Oral Sci**, 6, n. 4, p. 250-253, Dec 2014.

CHANIOTIS, A. The use of MTA/blood mixture to induce hard tissue healing in a root fractured maxillary central incisor. Case report and treatment considerations. **Int Endod J**, 47, n. 10, p. 989-999, Oct 2014.

CHANIOTIS, A. Orthodontic Movement after Regenerative Endodontic Procedure: Case Report and Long-term Observations. **J Endod**, 44, n. 3, p. 432-437, Mar 2018.

DA SILVA, G. F.; CESARIO, F.; GARCIA, A. M. R.; WECKWERTH, P. H. *et al.* Effect of association of non-steroidal anti-inflammatory and antibiotic agents with calcium hydroxide pastes on their cytotoxicity and biocompatibility. **Clin Oral Investig**, May 28 2019.

DUARTE, M. A.; BALAN, N. V.; ZEFERINO, M. A.; VIVAN, R. R. *et al.* Effect of ultrasonic activation on pH and calcium released by calcium hydroxide pastes in simulated external root resorption. **J Endod**, 38, n. 6, p. 834-837, Jun 2012.

EL HACHEM, R.; KHALIL, I.; LE BRUN, G.; PELLEN, F. *et al.* Dentinal tubule penetration of AH Plus, BC Sealer and a novel tricalcium silicate sealer: a confocal laser scanning microscopy study. **Clin Oral Investig**, 23, n. 4, p. 1871-1876, Apr 2019.

ESTRELA, C.; SYDNEY, G. B.; BAMMANN, L. L.; FELIPPE JUNIOR, O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. **Braz Dent J**, 6, n. 2, p. 85-90, 1995.

FARHAD, A.; ESFAHAN, M. Z. Calcium hydroxide: a review. **International Dental Journal**, 55, n. 5, p. 293-301, 2005.

HENCH, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **J. Am. Ceram. Soc.**, 74, n. 7, p. 1487-1510, 1991.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, 20, p. 340-349, Sep 1965.

KUMAR, A.; TAMANNA, S.; IFTEKHAR, H. Intracanal medicaments – Their use in modern endodontics: A narrative review. **Journal of Oral Research & Review**, 11, n. 2, p. 89-94, 2019.

LEE, S. J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **J Endod**, 19, n. 11, p. 541-544, Nov 1993.



LEONARDO, M. R.; HERNANDEZ, M. E.; SILVA, L. A.; TANOMARU-FILHO, M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 102, n. 5, p. 680-685, Nov 2006.

LOUSHINE, B. A.; BRYAN, T. E.; LOONEY, S. W.; GILLEN, B. M. *et al.* Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. **J Endod**, 37, n. 5, p. 673-677, May 2011.

MARTENS, L.; RAJASEKHARAN, S.; CAUWELS, R. Pulp management after traumatic injuries with a tricalcium silicate-based cement (Biodentine™): a report of two cases, up to 48 months follow-up. **Eur Arch Paediatr Dent**, 16, n. 6, p. 491-496, 2015,

MARTINHO, F. C.; GOMES, C. C.; NASCIMENTO, G. G.; GOMES, A. P. M. *et al.* Clinical comparison of the effectiveness of 7- and 14-day intracanal medications in root canal disinfection and inflammatory cytokines. **Clin Oral Investig**, 22, n. 1, p. 523-530, Jan 2018.

MOHAMMADI, Z.; DUMMER, P. M. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. **Int Endod J**, 44, n. 8, p. 697-730, Aug 2011.

NAIR, P. N. Endodontic biofilm, technology and pulpal regenerative therapy: where do we go from here? **Int Endod J**, 47, n. 11, p. 1003-1011, Nov 2014.

NAIR, P. N.; HENRY, S.; CANO, V.; VERA, J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 99, n. 2, p. 231-252, Feb 2005.

OLTRA, E.; COX, T. C.; LACOURSE, M. R.; JOHNSON, J. D. *et al.* Retreatability of two endodontic sealers, EndoSequence BC Sealer and AH Plus: a micro-computed tomographic comparison. **Restor Dent Endod**, 42, n. 1, p. 19-26, Feb 2017.

ORDINOLA-ZAPATA, R.; BRAMANTE, C. M.; GARCIA-GODOY, F.; MOLDAUER, B. I. *et al.* The effect of radiopacifiers agents on pH, calcium release, radiopacity, and antimicrobial properties of different calcium hydroxide dressings. **Microsc Res Tech**, 78, n. 7, p. 620-625, Jul 2015.

PEREIRA, T. C.; DA SILVA MUNHOZ VASCONCELOS, L. R.; GRAEFF, M. S. Z.; RIBEIRO, M. C. M. *et al.* Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. **Clin Oral Investig**, 23, n. 3, p. 1253-1262, Mar 2019.

PRATI, C.; GANDOLFI, M. G. Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. **Dent Mater**, 31, n. 4, p. 351-370, Apr 2015.

RICUCCI, D.; LIN, L. M.; SPANGBERG, L. S. Wound healing of apical tissues after root canal therapy: a long-term clinical, radiographic, and histopathologic observation study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, 108, n. 4, p. 609-621, Oct 2009.

SAATCHI, M.; SHOKRANEH, A.; NAVAEI, H.; MARACY, M. R. *et al.* Antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*: a systematic review and meta-analysis. **J Appl Oral Sci**, 22, n. 5, p. 356-365, Sep-Oct 2014.

SAFAVI, K. E.; SPANGBERG, L. S.; LANGELAND, K. Root canal dentinal tubule disinfection. **J Endod**, 16, n. 5, p. 207-210, May 1990.

SIMI JUNIOR, J.; MACHADO, R.; SOUZA, C. J.; LOYOLA, A. M. *et al.* Histological analysis of the biocompatibility of calcium hydroxide associated with a new vehicle. **Indian J Dent Res**, 26, n. 6, p. 627-632, Nov-Dec 2015.

SIQUEIRA, J. F., Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **Int Endod J**, 34, n. 1, p. 1-10, Jan 2001.

SIQUEIRA, J. F., Jr.; DE UZEDA, M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J Endod**, 22, n. 12, p. 674-676, Dec 1996.

SIQUEIRA, J. F., Jr.; GUIMARAES-PINTO, T.; ROCAS, I. N. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. **J Endod**, 33, n. 7, p. 800-805, Jul 2007.

SIQUEIRA, J. F., Jr.; LOPES, H. P. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. **Int Endod J**, 32, n. 5, p. 361-369, Sep 1999.

SIQUEIRA, J. F., Jr.; ROCAS, I. N. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. **J Endod**, 34, n. 11, p. 1291-1301.e1293, Nov 2008.

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. **Int Endod J**, 51, n. 3, p. 284-317, Mar 2018.

TULOGLU, N.; BAYRAK, S. Partial Pulpotomy with BioAggregate in Complicated Crown Fractures: Three Case Reports. **J Clin Pediatr Dent**, 40, n. 1, p. 31-35, Winter 2016.

VERA, J.; SIQUEIRA, J. F., Jr.; RICUCCI, D.; LOGHIN, S. *et al.* One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. **J Endod**, 38, n. 8, p. 1040-1052, Aug 2012.

VIDAL, K.; MARTIN, G.; LOZANO, O.; SALAS, M. *et al.* Apical Closure in Apexification: A Review and Case Report of Apexification Treatment of an Immature Permanent Tooth with Biodentine. **J Endod**, 42, n. 5, p. 730-734, May 2016.

ZANCAN, R. F.; VIVAN, R. R.; MILANDA LOPES, M. R.; WECKWERTH, P. H. *et al.* Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. **J Endod**, 42, n. 12, p. 1822-1828, Dec 2016.

**APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
BANCO DE DENTES HUMANOS****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado Sr.(a),

Como é de seu conhecimento, existe a indicação para a extração do(s) dente(s) \_\_\_\_\_ com o propósito de melhorar sua saúde, conforme registro no prontuário. Estamos realizando uma pesquisa com dentes extraídos com o título: **“REMOÇÃO DE DOIS TIPOS DE MEDICAÇÃO INTRACANAL POR MEIO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO: PUI E XP-ENDO FINISHER”**. Tal pesquisa tem por objetivo avaliar a remoção de dois tipos diferentes de medicamentos que serão inseridos dentro do dente, após utilização de três maneiras de irrigar o canal do dente. Este trabalho poderá nos fornecer dados para uma melhor conduta de tratamento, uma vez que ajudará na decisão de escolha para uma adequada limpeza do interior do canal do dente.

Todas as informações obtidas a partir deste estudo poderão ser publicadas, com finalidade de tornar pública os resultados do trabalho, de forma anônima.

Essa pesquisa não lhe trará benefícios diretos. O benefício desta pesquisa ao(a) Sr.(a) se dará de forma indireta, pois essa pesquisa irá gerar maiores conhecimentos acerca do desempenho e influência do instrumental utilizados na remoção de dois tipos de materiais usados como medicamento dentro do canal.

O risco desta pesquisa ao(a) Sr.(a) é a perda do sigilo e confidencialidade de seus dados pessoais, porém isso será evitado através deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que garante que qualquer publicação dos resultados dessa pesquisa ocorrerá de forma anônima, o qual será assinado pelo pesquisador responsável. Além disso, este termo ficará retido, sobre responsabilidade do pesquisador responsável, por um período de cinco anos.

O risco da extração dentária dos dentes doados à pesquisa não está associado a esta pesquisa, visto que os dentes foram indicados para a extração por outros motivos e não pela própria pesquisa a ser desenvolvida.

Pelo presente instrumento que atende as exigências legais, o(a) Sr.(a) \_\_\_\_\_, ciente dos procedimentos à que será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em doar o(s) referido(s) dente(s) à pesquisa informada. Informamos que este(s) será(ão) utilizado(s) exclusivamente na pesquisa a ser realizada na Faculdade de Odontologia da UFRGS somente após certificação do Comitê de Ética responsável.

Caso tiver novas perguntas sobre este estudo e/ou sobre o(s) dente(s) doado(s), poderá solicitar informações ao Prof. Marcus Vinícius Reis Só (pesquisador responsável) no telefone (51) 33085357 ou para o Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da UFRGS no telefone (51) 3308-3738.

Finalmente, ressaltamos que caso o(a) Sr.(a) não concorde em doar o(s) dente(s) para a pesquisa, não haverá qualquer interferência em seu atendimento odontológico.

Declaro ter lido - ou me foi lido - as informações acima antes de assinar este formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, da doação do(s) meu(s) órgão(s) (dente(s)) para o presente estudo.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do doador ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável  
Prof. Marcus Vinícius Reis Só

\_\_\_\_\_  
Assinatura e número do CRO do CD responsável pelo atendimento

#### ATENÇÃO:

- A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, Sr(a) pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa UFRGS, localizado a Av. Paulo Gama, 110 - 7º andar - Porto Alegre/RS - CEP: 90040-060 - Fone: (51) 3308.4085. E-mail: [ética@propesq.ufrgs.br](mailto:ética@propesq.ufrgs.br)
- Esse termo de consentimento será impresso em duas cópias, sendo uma de propriedade do participante da pesquisa e a outra de propriedade dos pesquisadores.

**APÊNDICE 2 - TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS****UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
BANCO DE DENTES HUMANOS****TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS**

Eu, \_\_\_\_\_,  
aceito doar o meu dente \_\_\_\_\_ e concordo em doá-lo à pesquisa intitulada  
REMOÇÃO DE DOIS TIPOS DE MEDICAÇÃO INTRACANAL POR MEIO DE  
DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO: PUI E XP-ENDO FINISHER".  
Estou ciente de que o dente foi extraído por indicação terapêutica para a  
melhoria da minha saúde, como documentado no prontuário da Faculdade. A  
pesquisa citada anteriormente deverá ter sido previamente aprovada pela  
Comissão de Pesquisa (COMPESQ) da Faculdade de Odontologia e, a seguir,  
pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, sendo preservada a identidade  
do doador na divulgação dos resultados.

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do doador ou responsável

\_\_\_\_\_  
Testemunha

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável

Prof. Marcus Vinícius Reis Só

**ATENÇÃO: Este termo é referente apenas a uma unidade dentária doada**



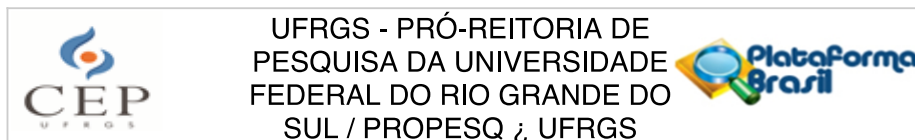
## ANEXO 1 – Aprovação da Comissão Científica e Ética (COMPESQ) da Faculdade de Odontologia da UFRGS

Este estudo tem como objetivo avaliar as propriedades físico-químicas (pH, liberação de íons cálcio e radiopacidade) de duas pastas utilizadas como medicação intracanal (Ultradent e Bio C Temp). Para a avaliação do pH e liberação de cálcio, tubos de polietileno de 1mm de diâmetro interno e 10 mm de comprimento serão preenchidos com as pastas e imersos em 10 ml de água deionizada. Após os períodos experimentais de 1, 24, 72 e 168 horas as amostras serão avaliadas quanto ao pH e a liberação de cálcio em um medidor de pH e espectrofotômetro colorimétrico, respectivamente. Na análise da radiopacidade, serão confeccionados anéis com 10mm de diâmetro e 1mm de espessura das pastas. O valor da radiopacidade será determinado de acordo com a densidade radiográfica (mm Al). Serão analisados através do teste T de Student relacionando valores iniciais, mínimo e máximo. Todas as análises serão realizadas com um nível de significância de 5%.

O projeto foi avaliado quanto ao mérito científico e foi aprovado.

Fechar

## ANEXO 2 – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFRGS



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** REMOÇÃO DE DOIS TIPOS DE MEDICAÇÃO INTRACANAL POR MEIO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO: PUI E XP-ENDO FINISHER

**Pesquisador:** Marcus Vinicius Reis Só

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 03668018.1.0000.5347

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.618.105

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma emenda ao projeto "Remocao de dois tipos de medicacao intracanal por meio de diferentes protocolos de irrigacao: PUI e XP-Endo Finisher", coordenado pelo Prof Marcus Vinicius Reis Só, da Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O objetivo da emenda é adicionar uma nova etapa experimental ao projeto. Na proposta anterior, os autores avaliariam três protocolos de irrigação (irrigação convencional, PUI e a XP-Endo Finisher) e sua capacidade de remover duas pastas utilizadas como medicação intracanal (Ultracal XS e Bio C Temp). Nesta etapa, as amostras serão contaminadas com *Enterococcus faecalis* previamente à limpeza, e será determinada a capacidade antimicrobiana das pastas Ultracal XS e Bio-C Temp, por meio de cultivo bacteriano. Foi apresentada justificativa. Não há alteração no número de participantes que serão convidados a integrar o estudo e que irão doar os dentes.

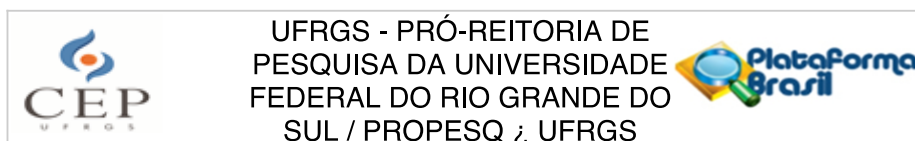
#### Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal não foi modificado. Foi incluído novo objetivo secundário que será "Investigar se alguma das pastas utilizadas como medicação intracanal (Ultracal XS e Bio C Temp) é mais difícil de ser removida do interior do canal após os protocolos de irrigação aplicados."

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não foram alterados.

**Endereço:** Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro  
**Bairro:** Farroupilha **CEP:** 90.040-060  
**UF:** RS **Município:** PORTO ALEGRE  
**Telefone:** (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 3.618.105

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Vide apresentação do projeto. Serão convidados a integrar o estudo 60 participantes.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Não houve alteração.

**Recomendações:**

Caso a metodologia do projeto seja extensa, os pesquisadores podem apresentá-la de forma sintetizada no Formulário de Submissão à Plataforma Brasil. No projeto ela deve ser apresentada de forma completa, em detalhes.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A proposta de emenda está em condições de aprovação, conforme o estabelecido nas Resoluções 466/2012 e 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde.

**QUESTIONAMENTOS ENCAMINHADOS EM PARECER ANTERIOR:**

- Adequar as informações presentes no Formulário de Submissão à Plataforma Brasil e também no projeto original (resumo, metodologia, objetivo secundário, hipótese, cronograma, revisão do orçamento).

ATENDIDO. Os pesquisadores informam que "Não foi possível colocar todas as informações referentes à metodologia no Formulário de Submissão devido ao limitado número de caracteres". As informações quanto à metodologia foram apresentadas de forma correta no projeto.

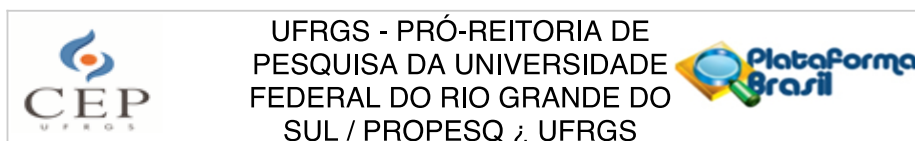
- Os pesquisadores informam que não será alterado o número de dentes. Porém, deve-se indicar que não será alterado o número de participantes convidados a integrar o estudo, e conseqüentemente não será alterado o número de dentes.

ATENDIDO.

- Não fica claro em que momento será inserida a nova etapa experimental. Solicita-se aos autores que apresentem fluxograma do estudo, indicando aonde será inserida a etapa experimental (parece ser anterior à remoção da medicação intracanal). Solicita-se aos pesquisadores incorporar a nova etapa experimental no projeto completo.

ATENDIDO.

**Endereço:** Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro  
**Bairro:** Farroupilha **CEP:** 90.040-060  
**UF:** RS **Município:** PORTO ALEGRE  
**Telefone:** (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 3.618.105

- Informar a origem da cepa de *Enterococcus faecalis*. Em caso de cepa clínica, há necessidade de registro na Plataforma SISGEN.

ATENDIDO. Será empregada cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

- Adequar descrição de critérios de inclusão na Plataforma Brasil e no Projeto. Devem ser descritos aqueles relacionados aos participantes e não apenas aos dentes. Informar a idade dos participantes. Em caso de participantes menores de 18 anos, incluir Termo de Assentimento Livre e Esclarecido para o participante e TCLE para o responsável.

ATENDIDO. Serão convidados a participar do estudo apenas indivíduos com mais de 18 anos.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Aprovado.

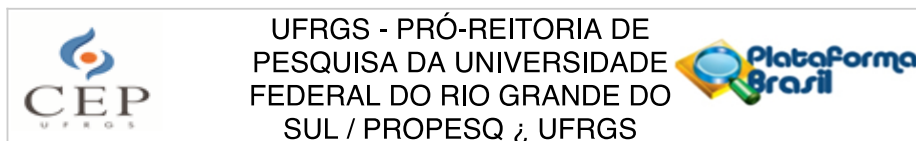
**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1416611_E1.pdf	19/09/2019 10:57:09		Aceito
Outros	carta.docx	19/09/2019 10:56:21	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	proejto_emenda.docx	19/09/2019 10:29:20	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito
Outros	E_versao4.docx	16/08/2019 15:12:09	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_protocolosirrigacao.pdf	28/02/2019 19:05:18	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_MIC.pdf	28/02/2019 19:03:37	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito
Outros	PARECER.pdf	28/11/2018 14:20:01	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_ok.pdf	28/11/2018 14:06:24	Marcus Vinicius Reis Só	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Endereço:** Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro  
**Bairro:** Farroupilha **CEP:** 90.040-060  
**UF:** RS **Município:** PORTO ALEGRE  
**Telefone:** (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 3.618.105

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PORTO ALEGRE, 03 de Outubro de 2019

---

**Assinado por:**  
**MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro  
**Bairro:** Farroupilha **CEP:** 90.040-060  
**UF:** RS **Município:** PORTO ALEGRE  
**Telefone:** (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br