

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/03/2024.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Giulia Bueno Rodrigues

**Propriedades físico-químicas e antibiofilme de materiais endodônticos
biocerâmicos obturadores e reparadores e associações com cetramida**

Araraquara

2022



**UNESP - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho"
Faculdade de Odontologia de Araraquara**



Giulia Bueno Rodrigues

**Propriedades físico-químicas e antibiofilme de materiais endodônticos
biocerâmicos obturadores e reparadores e associações com cetramida**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do Título de Mestre em Odontologia, na Área de Endodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

Araraquara

2022

R696p

Rodrigues, Giulia Bueno

Propriedades físico-químicas e antibiofilme de materiais endodônticos biocerâmicos obturadores e reparadores e associações com cetramida / Giulia Bueno Rodrigues. -- Araraquara, 2022

55 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

1. Materiais dentários. 2. Propriedades físicas e químicas. 3. Biofilmes. 4. Microtomografia por raio-X. 5. Endodontia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Giulia Bueno Rodrigues

**Propriedades físico-químicas e antibiofilme de materiais endodônticos
biocerâmicos obturadores e reparadores e associações com cetramida**

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Endodontia

Presidente e orientador: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru

2º Examinador: Guilherme Ferreira Silva

3º Examinador: Prof. Dr. Evandro Watanabe

Araraquara, 29 de março de 2022.

DADOS CURRICULARES

Giulia Bueno Rodrigues

NASCIMENTO: 11/12/1996 – São Carlos – SP

FILIAÇÃO: Roberta Aparecida Correa Bueno Rodrigues

Giuliano Bonfá Rodrigues

2014-2019: Graduação em Odontologia - Faculdade de Odontologia de Araraquara/UNESP, FOAR

2019-2020: Especialização em Radiologia Odontológica e Imaginologia (FACOP - Bauru).

2020-Atual: Mestrado em Odontologia – Área de Endodontia (Faculdade de Odontologia de Araraquara/UNESP, FOAR)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais **Roberta Aparecida Correa Bueno Rodrigues e Giuliano Bonfá Rodrigues**, por serem minha base para tudo, confiarem em minha capacidade, me apoiando e incentivando sempre. Pelo amor, companheirismo e cumplicidade. Sou eternamente grata a vocês.

Aos meus irmãos, meu namorado e toda minha família agradeço todo o apoio durante esse período, vocês são muito importantes em todas as etapas de minha vida.

À minha orientadora **Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru**, agradeço por todo conhecimento compartilhado desde a graduação na iniciação científica até o mestrado, e pela oportunidade de se realizar a pós-graduação com ela. Muito obrigada pelo companheirismo e por todos os ensinamentos passados nesse período.

Ao **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho**, pelo conhecimento científico transmitido, pelas oportunidades desde minha graduação e pela contribuição na realização desta dissertação e artigos.

À **Gisselle Moraima Chavez Andrade**, por toda ajuda, orientação, e conhecimento a mim transmitidos durante toda minha trajetória na área da pesquisa. Mas principalmente à agradeço por essa amizade que construímos desde minha graduação e pelos incentivos diários, sem você nada disso seria possível. Muito obrigada!

À minha amiga **Luana**, agradeço por nossa convivência diária! Mesmo de longe sempre estávamos prontamente ali ajudando uma à outra e isso com certeza foi muito importante na minha trajetória. Obrigada por tudo!

Aos meus colegas de pós-graduação **Anahi, Larissa, Danilo, Ana Flávia, Sammêa e Victória**, agradeço a companhia durante esse período, nas disciplinas e congressos, sempre presentes quando foi preciso. Não estaria aqui hoje se não fosse todos vocês.

Aos meus colegas do doutorado, **Airton, Karina, Jáder, Fernanda, Hernán e Victor**, obrigada por toda ajuda durante esse período. Vocês foram essenciais no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

À **CNPq** pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Rodrigues GB. Propriedades físico-químicas e antibiofilme de materiais endodônticos biocerâmicos obturadores e reparadores e associações com cetramida [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

Objetivo: Materiais biocerâmicos devem apresentar propriedades físico-químicas e antibiofilme adequadas. Foram avaliados **(Publicação 1):** cimentos biocerâmicos reparadores: NeoPutty (Nusmile, EUA) e MTA Repair HP (Angelus, Brasil) **(Publicação 2):** e os cimentos endodônticos biocerâmicos Neo-MTA 2 (Nusmile, EUA) e BioRoot RCS (Septodont, França) associados ou não a cetramida (CTR) 1%. **Metodologia:** Tempo de presa (TP) foi avaliado segundo norma ISO-6876 empregando agulha Gilmore. Tubos de polietileno preenchidos com os cimentos foram utilizados para avaliação do pH nos períodos de 1, 3, 7, 14, 21 e 28 dias da imersão em água deionizada. Tubos de dentina bovina foram imersos em água destilada por 24 h a 37°C, preenchidos com os cimentos, e depois foi realizado escaneamento em Microtomografia computadorizada (Micro-CT. SkyScan 1176. Bruker, Bélgica) a 9 µm. Após imersão dos cimentos reparadores em PBS por 7 dias e dos cimentos obturadores por 7 e 28 dias, novo escaneamento foi realizado para avaliação da alteração volumétrica e porosidade. A reconstrução (NRecon - V1.6.4.7; SkyScan, Bélgica), sobreposição (Data Viewer - V1.5.2.4; SkyScan, Bélgica) e análise (CTAn - V1.15.4.0; SkyScan, Bélgica) das imagens obtidas com os escaneamentos foi realizada. Modelos 3D das cavidades foram obtidos por meio do programa CTVol (V2.3.1.0). A atividade antibiofilme, foi avaliada pelo teste de contato direto modificado com biofilme (TCDM). Os dados obtidos foram submetidos aos testes estatísticos adequados para cada experimento com nível de significância de 5%. **Publicação 1 – Resultados:** NeoPutty apresentou maior TP que MTA Repair HP ($p < 0,05$). MTA Repair HP apresentou maiores valores de pH ($p < 0,05$). Em todos os períodos, os dois cimentos apresentaram pH alcalino. NeoPutty demonstrou maior solubilidade ($p < 0,05$) que MTA-HP. Porém, ambos materiais apresentaram menos que 3% de solubilidade. A alteração volumétrica e porosidade apresentaram valores menores que 1%, sem diferença significativa entre materiais ($p > 0,05$). Ambos os cimentos apresentaram ação antibiofilme em comparação ao grupo controle, sem diferença estatística entre si ($p > 0,05$). **Conclusões:** NeoPutty e MTA Repair HP apresentam pH alcalino, baixa solubilidade, baixa porosidade e estabilidade dimensional, além de ação antibiofilme, sugerindo a aplicação clínica. **Publicação 2 – Resultados:** BR e BR+CTR apresentaram menor TP que NMTA2 e NMTA2+CTR ($p < 0,05$). Em todos os períodos, os cimentos avaliados e associações apresentaram pH alcalino. Não houve diferença significativa na alteração volumétrica entre a extremidade e a parte interna dos espécimes ($p > 0,05$). Os grupos que apresentaram diferença estatística entre os períodos de 7 e 28 dias ($p < 0,05$) são NEO MTA2 na análise da extremidade e NEO+CTR na análise da parte interna do espécime, sendo que após 28 dias os materiais apresentam diminuição do volume. As associações com CTR demonstraram maior atividade antibiofilme ($p < 0,5$) quando comparados com os cimentos sem associação. **Conclusões:** Os materiais apresentaram adequados tempo de presa e pH, atividade antibiofilme e baixa alteração volumétrica. A associação com CTR não prejudicou as propriedades físico-químicas, além de aumentar a atividade antibiofilme de Neo-MTA 2 e BioRoot RCS.

Palavras-chave: Materiais dentários. Propriedades físicas e químicas. Biofilmes. Microtomografia por raio-X. Endodontia.

Rodrigues GB. Physicochemical and antibiofilm properties of endodontic and repair bioceramic materials and associations with cetrimide [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

Objective: Bioceramic materials must have physicochemical and antibiofilm properties. We evaluated (**Publication 1**): bioceramic repair materials: NeoPutty (Nusmile, USA) and MTA Repair HP (Angelus, Brazil) and the bioceramic endodontic cements (Publication 2): Neo-MTA 2 (Nusmile, USA) and BioRoot RCS (Septodont, France) associated or not with 1% cetrimide (CTR). **Methodology:** Setting time (ST) was evaluated according to ISO-6876 using Gilmore needle. Polyethylene tubes filled with cement were used to evaluate the pH in the periods of 1, 3, 7, 14, 21 and 28 days of immersion in deionized water. Bovine dentin tubes were immersed in distilled water for 24 h at 37°C, filled with cements, and then scanned in Computerized Microtomography (Micro-CT. SkyScan 1176. Bruker, Belgium) at 9 µm. After immersion of the repair cements in PBS for 7 days and the endodontics cements for 7 and 28 days, a new scan was performed to evaluate the volumetric change and porosity. The reconstruction (NRecon - V1.6.4.7; SkyScan, Belgium), overlay (Data Viewer - V1.5.2.4; SkyScan, Belgium) and analysis (CTAn - V1.15.4.0; SkyScan, Belgium) of the images obtained with scans were performed. 3D models of the cavities were obtained using the CTVol program (V2.3.1.0). Antibiofilm activity was evaluated by the modified direct contact test with biofilm. The data obtained were submitted to the appropriate statistical tests for each experiment with a significance level of 5%. **Publication 1 – Results:** NeoPutty presented higher ST than MTA Repair HP ($p < 0.05$). MTA Repair HP showed higher pH values ($p < 0.05$). In all periods, the two cements presented alkaline pH. NeoPutty demonstrated greater solubility ($p < 0.05$) than MTA-HP. However, both materials showed less than 3% solubility. The volumetric change and porosity presented values lower than 1%, with no significant difference between materials ($p > 0.05$). Both cements showed antibiofilm action compared to the control group, with no statistical difference between them ($p > 0.05$). **Conclusions:** NeoPutty and MTA Repair HP have alkaline pH, low solubility, low porosity and dimensional stability, in addition to antibiofilm action, suggesting clinical application. **Publication 2 – Results:** BR and BR+CTR showed lower ST than NMTA2 and NMTA2+CTR ($p < 0.05$). In all periods, the evaluated cements and associations presented alkaline pH. There was no significant difference in volumetric change between the tip and the inside of the specimens ($p > 0.05$). The groups that presented statistical difference between the periods of 7 and 28 days ($p < 0.05$) are NEO MTA2 in the analysis of the extremity and NEO+CTR in the analysis of the internal part of the specimen, and after 28 days the materials show a decrease in volume. Associations with CTR showed greater antibiofilm activity ($p < 0.5$) when compared with cements without association. **Conclusions:** The materials showed adequate setting time and pH, antibiofilm activity and low volumetric change. The association with CTR did not impair the physicochemical properties, in addition to increasing the antibiofilm activity of Neo-MTA 2 and BioRoot RCS.

Keywords: Dental materials. Physical and Chemical Properties. Biofilms. X-Ray Microtomography. Endodontics.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 PUBLICAÇÕES	14
3.1 Publicação 1	14
3.2 Publicação 2	26
4 DISCUSSÃO	38
5 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE A – METODOLOGIA DETALHADA	45
ANEXO A - APROVAÇÃO PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....	55

1 INTRODUÇÃO

Materiais endodônticos devem seguir normas ISO (*International Organization for Standardization* - ISO 6876)¹ e ADA (*American Institute/American Dental Association* - nº 57)² que determinam parâmetros para propriedades como solubilidade, pH, tempo de presa e escoamento. Alteração volumétrica e porosidade podem ser avaliadas por microtomografia computadorizada (Micro-CT)^{3,4}, complementando testes da ISO. Outra propriedade importante dos materiais endodônticos é a ação antimicrobiana, que pode contribuir para o controle da infecção persistente no sistema de canais radiculares.

Estabilidade dimensional e baixa solubilidade são desejadas para um material endodôntico, uma vez que a contração ou dissolução do mesmo pode comprometer o sucesso do tratamento^{5,6}. Segundo especificações da ANSI/ADA nº 57² e ISO 6876¹, a alteração dimensional não deve exceder 1,0% em contração ou 0,1% em expansão. A metodologia convencional de solubilidade preconizada pelas normas ISO/ADA apresenta limitações para avaliação de cimentos biocerâmicos uma vez que está baseada na perda de massa após imersão em água destilada seguida por desidratação. A imersão em solução fisiológica tamponada (PBS) demonstra menor solubilidade dos biocerâmicos quando comparados à imersão em água destilada^{4,7}. Valores de solubilidade mais baixos após imersão em PBS podem ser encontrados devido à precipitação da hidroxiapatita de cálcio na superfície dos materiais a base de silicato de cálcio⁸.

Outra propriedade importante para materiais é a porosidade, que pode ser relacionada ao selamento. A presença de poros pode ocorrer pelo processo de mistura no momento da manipulação do cimento⁹. Para diminuir a influência da manipulação e facilitar o emprego clínico, novos materiais prontos para uso foram desenvolvidos. Para avaliar a porosidade de um material, novas metodologias estão sendo propostas, como a análise em microtomografia computadorizada (Micro-CT)^{10,11}.

Micro-CT é uma ferramenta não destrutiva que permite avaliar a microestrutura interna de materiais endodônticos, além da adaptação marginal de cimentos¹². Além disso, a Micro-CT pode ser utilizada para avaliação da alteração volumétrica de cimentos endodônticos após imersão em diversos fluídos⁴. Com a análise volumétrica

(em mm³), podemos relacionar a propriedade de solubilidade com a alteração dimensional dos materiais⁴.

MTA Repair HP (MTA HP. Angelus, PR, Brasil) é um cimento reparador a base de silicato tricálcico desenvolvido para melhorar características do MTA, como a consistência e manipulação. Apresentado na forma de pó-líquido, seu pó contém silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, óxido de cálcio e tungstato de cálcio e o líquido água e plastificante para melhorar a manipulação¹³. A biocompatibilidade e capacidade de induzir biomineralização do MTA Repair HP é comprovada¹³⁻¹⁵. Além disso, apresenta propriedades físico-químicas satisfatórias, como baixa solubilidade, escoamento, radiopacidade¹³ e resistência a compressão¹⁶. Até o momento, nenhum estudo foi desenvolvido avaliando a estabilidade volumétrica do MTA Repair HP.

NeoPutty é um novo cimento reparador pronto para uso e segundo o fabricante (Nusmile, Houston, TX USA) é constituído por um pó inorgânico extremamente fino de silicato tricálcico/dicálcico em meio orgânico. Segundo o fabricante, NeoPutty apresenta propriedades biológicas como bioatividade e biocompatibilidade, além de radiopacidade, estabilidade dimensional, pH elevado, consistência adequada para inserção na cavidade, tempo de trabalho de 1h e de presa de 4 horas, além de não causar escurecimento dentário. Sua indicação abrange vários procedimentos, como por exemplo: pulpotomias, selamento de perfurações, retrobturação, reabsorção radicular, etc. Ainda existem poucos estudos na literatura sobre esse material e suas propriedades.

BioRoot RCS (Septodont, Saint Maur des Fossés, França) é um cimento obturador biocerâmico composto por silicato tricálcico, óxido de zircônio e povidona no pó e cloreto de cálcio dihidratado e água no líquido. BioRoot demonstrou ser biocompatível e bioativo¹⁷, além de apresentar adequadas propriedades físico-químicas¹⁸ e antimicrobianas contra *Enterococcus faecalis*^{19,20}. Porém, por ser a base de silicato de cálcio, alguns estudos mostram alta solubilidade¹⁸ e maior porosidade quando comparado a um cimento de resina epóxi AH-Plus (Dentsply)^{21,22}.

Neo-MTA 2 é um novo cimento na apresentação pó-líquido e segundo o fabricante (Nusmile, Houston, TX USA) é composto por um pó inorgânico extremamente fino de silicato tricálcico e dicálcico e um gel à base de água para ser utilizado como material reparador (selamento de perfurações, retrobturação, pulpotomia) ou obturador de canais radiculares, dependendo da quantidade de gel

incorporada. Ainda, segundo o fabricante, o NeoMTA 2 foi produzido para facilitar a manipulação em comparação ao NeoMTA com maior radiopacidade (óxido de tântalo). Na consistência putty (utilizado como reparador), seu tempo de presa é de 14 minutos. Quando adicionado mais gel (utilizado como obturador) apresenta em torno de 1 hora e 10 minutos para a presa final. Ainda não há estudos sobre as propriedades desse novo cimento endodôntico.

Ação antimicrobiana é desejável aos materiais reparadores, já que essa propriedade pode colaborar para a desinfecção da dentina adjacente, aumentando as chances de sucesso do tratamento. Os materiais à base de silicato tricálcico já mostraram apresentar ação antimicrobiana devido ao pH alcalino²³. Esta propriedade pode ser associada com a liberação de íons hidroxila durante o processo de hidratação do material^{24,25}. Substâncias como a cetramida (CTR)²⁶ podem ser adicionadas ao material, visando aumentar a atividade antimicrobiana e contribuindo para o sucesso do tratamento. A CTR ou brometo de cetil-trimetil-amônio é um surfactante catiônico que apresenta efetividade antimicrobiana e antibiofilme sobre *E. faecalis*^{27,28} e tem sido associado às soluções irrigadoras como clorexidina (CHX)²⁸, soluções quelantes (EDTA)^{27,29} e a cimentos obturadores^{26,30}. Desta maneira, a incorporação de agentes amônio quaternários aos materiais endodônticos tem sido relatada, demonstrando potencial para melhorar a ação antimicrobiana.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, pode-se concluir:

O novo cimento pronto para uso NeoPutty demonstra propriedades físico-químicas favoráveis como adequado tempo de presa, pH alcalino, baixa solubilidade, estabilidade dimensional, baixa porosidade e atividade antibiofilme;

Novo cimento obturador NeoMTA 2, BioRoot e associações apresentaram adequados tempo de presa, pH alcalino, baixa alteração volumétrica e atividade antibiofilme, sendo que a associação com a CTR não prejudicou as propriedades físico-químicas testadas e aumentou a atividade antibiofilme.

REFERÊNCIAS*

1. International Organization for Standardization Dentistry. Root canal sealing materials. London: British Standards Institution ISO 6876; 2012.
2. American National Standards Institute/American Dental Association. Specification no. 57 ADA. Laboratory testing methods: endodontic filling and sealing materials: endodontic sealing materials. Chicago: ANSI/ADA.; 2000;
3. Akinci L, Simsek N, Aydinbelge HA. Physical properties of MTA, BioAggregate and Biodentine in simulated conditions: a micro-CT analysis. Dent Mater J. 2020; 39(4): 601-7.
4. Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chavez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility, volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. Int Endod J. 2020; 53(3): 385-91.
5. Amoroso-Silva PA, Guimaraes BM, Marciano MA, Duarte MA, Cavenago BC, Ordinola-Zapata R, et al. Microscopic analysis of the quality of obturation and physical properties of MTA Fillapex. Microsc Res Tech. 2014; 77(12): 1031-6.
6. Williamson AE, Dawson DV, Drake DR, Walton RE, Rivera EM. Effect of root canal filling/sealer systems on apical endotoxin penetration: a coronal leakage evaluation. J Endod. 2005; 31(8): 599-604.
7. Urban K, Neuhaus J, Donnermeyer D, Schafer E, Dammaschke T. Solubility and pH value of 3 different root canal sealers: A long-term investigation. J Endod. 2018; 44(11): 1736-40.
8. Donnermeyer D, Burklein S, Dammaschke T, Schafer E. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. Odontology. 2019; 107(4): 421-36.
9. De Souza ET, Nunes Tameirao MD, Roter JM, De Assis JT, De Almeida Neves A, De-Deus GA. Tridimensional quantitative porosity characterization of three set calcium silicate-based repair cements for endodontic use. Microsc Res Tech. 2013; 76(10): 1093-8.
10. Bianco E, Calvelli C, Citterio CL, Pellegatta A, Venino PM, Maddalone M. Evaluation with micro-ct of the canal seal made with two different bioceramic cements: GuttaFlow Bioseal and BioRoot RCS. J Contemp Dent Pract. 2020; 21(4): 359-66.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

11. Torres FFE, Guerreiro-Tanomaru JM, Bosso-Martelo R, Espir CG, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Solubility, porosity, dimensional and volumetric change of endodontic sealers. *Braz Dent J.* 2019; 30(4): 368-73.
12. Soares AP, Bitter K, Lagrange A, Rack A, Shemesh H, Zaslansky P. Gaps at the interface between dentine and self-adhesive resin cement in post-endodontic restorations quantified in 3D by phase contrast-enhanced micro-CT. *Int Endod J.* 2020; 53(3): 392-402.
13. Ferreira CMA, Sassone LM, Goncalves AS, de Carvalho JJ, Tomas-Catala CJ, Garcia-Bernal D, et al. Physicochemical, cytotoxicity and in vivo biocompatibility of a high-plasticity calcium-silicate based material. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 3933.
14. Cintra LTA, Benetti F, de Azevedo Queiroz IO, de Araujo Lopes JM, Penha de Oliveira SH, Sivieri Araujo G, et al. Cytotoxicity, biocompatibility, and biomineralization of the new high-plasticity MTA material. *J Endod.* 2017; 43(5): 774-8.
15. Jimenez-Sanchez MDC, Segura-Egea JJ, Diaz-Cuenca A. Higher hydration performance and bioactive response of the new endodontic bioactive cement MTA HP repair compared with ProRoot MTA white and NeoMTA plus. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2019; 107(6): 2109-20.
16. Silva EJ, Carvalho NK, Zanon M, Senna PM, G DE-D, Zuolo ML et al. Push-out bond strength of MTA HP, a new high-plasticity calcium silicate-based cement. *Braz Oral Res.* 2016; 30(1): 1-5.
17. Camps J, Jeanneau C, El Ayachi I, Laurent P, About I. Bioactivity of a calcium silicate-based endodontic cement (BioRoot RCS): Interactions with human periodontal ligament cells in vitro. *J Endod.* 2015; 41(9): 1469-73.
18. Colombo M, Poggio C, Dagna A, Meravini MV, Riva P, Trovati F, et al. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *J Clin Exp Dent.* 2018; 10(2): e120-e6.
19. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology.* 2019; 107(4): 513-20.
20. Kharouf N, Arntz Y, Eid A, Zghal J, Sauro S, Haikel Y, et al. Physicochemical and antibacterial properties of novel, premixed calcium silicate-based sealer compared to powder-liquid bioceramic sealer. *J Clin Med.* 2020; 9(10): 3096.
21. Milanovic I, Milovanovic P, Antonijevic D, Dzeletovic B, Djuric M, Miletic V. Immediate and long-term porosity of calcium silicate-based sealers. *J Endod.* 2020; 46(4): 515-23.

22. Viapiana R, Moinzadeh AT, Camilleri L, Wesselink PR, Tanomaru Filho M, Camilleri J. Porosity and sealing ability of root fillings with gutta-percha and BioRoot RCS or AH Plus sealers. Evaluation by three ex vivo methods. *Int Endod J*. 2016; 49(8): 774-82.
23. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of BioRoot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J*. 2017; 50 Suppl 2(e120-e36).
24. Lucas CP, Viapiana R, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, Camilleri J, Tanomaru-Filho M. Physicochemical properties and dentin bond strength of a tricalcium silicate-based retrograde material. *Braz Dent J*. 2017; 28(1): 51-6.
25. Retana-Lobo C, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Mendes de Souza BD, Reyes-Carmona J. Non-Collagenous dentin protein binding sites control mineral formation during the biomineralisation process in radicular dentin. *Materials (Basel)*. 2020; 13(5):1053.
26. Bailon-Sanchez ME, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antibacterial and anti-biofilm activity of AH plus with chlorhexidine and cetrimide. *J Endod*. 2014; 40(7): 977-81.
27. Liu Y, Guo L, Li Y, Guo X, Wang B, Wu L. In vitro comparison of antimicrobial effectiveness of QMix and other final irrigants in human root canals. *Sci Rep*. 2015; 5(17823).
28. Maria Ferrer-Luque C, Teresa Arias-Moliz M, Ruiz-Linares M, Elena Martinez Garcia M, Baca P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. *Int J Oral Sci*. 2014; 6(1): 46-9.
29. Giardino L, Bidossi A, Del Fabbro M, Savadori P, Maddalone M, Ferrari L, et al. Antimicrobial activity, toxicity and accumulated hard-tissue debris (AHTD) removal efficacy of several chelating agents. *Int Endod J*. 2020; 53(8): 1093-110.
30. Gjorgievska E, Apostolska S, Dimkov A, Nicholson JW, Kaftandzieva A. Incorporation of antimicrobial agents can be used to enhance the antibacterial effect of endodontic sealers. *Dent Mater*. 2013; 29(3): e29-34.
31. Silva EJ, Perez R, Valentim RM, Belladonna FG, De-Deus GA, Lima IC, et al. Dissolution, dislocation and dimensional changes of endodontic sealers after a solubility challenge: a micro-CT approach. *Int Endod J*. 2017; 50(4): 407-14.
32. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2011; 37(5): 673-7.
33. Guimaraes BM, Prati C, Duarte MAH, Bramante CM, Gandolfi MG. Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA Repair HP and MTA Vitalcem. *J Appl Oral Sci*. 2018; 26(e2017115).

34. Razmi H, Aminsobhani M, Bolhari B, Shamshirgar F, Shahsavan S, Shamshiri AR. Calcium enriched mixture and mineral trioxide aggregate activities against *Enterococcus faecalis* in presence of dentin. *Iran Endod J.* 2013; 8(4): 191-6.
35. Zordan-Bronzel CL, Esteves Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chavez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of physicochemical properties of a new calcium silicate-based sealer, Bio-C Sealer. *J Endod.* 2019; 45(10): 1248-52.
36. Faria-Junior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FL, Guerreiro-Tanomaru JM. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int Endod J.* 2013; 46(8): 755-62.
37. Guerreiro Tanomaru JM, Storto I, Da Silva GF, Bosso R, Costa BC, Bernardi MI, et al. Radiopacity, pH and antimicrobial activity of Portland cement associated with micro- and nanoparticles of zirconium oxide and niobium oxide. *Dent Mater J.* 2014; 33(4): 466-70.