

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/03/2018.



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



ROBERTO ALMELA HOSHINO

**PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS, ANTIMICROBIANAS E BIOLÓGICAS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS COM ÓXIDO DE CÁLCIO E RESINA
SALICILATO.**

Araraquara
2016



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



ROBERTO ALMELA HOSHINO

**PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS, ANTIMICROBIANAS E BIOLÓGICAS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS COM ÓXIDO DE CÁLCIO E RESINA
SALICILATO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Odontologia.

Orientador: ***Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho***

Araraquara
2016

Hoshino, Roberto Almela

Propriedades físicas, químicas, antimicrobianas e biológicas de cimentos endodônticos com óxido de cálcio e resina salicilato / Roberto Almela Hoshino.-- Araraquara: [s.n.], 2016.

52 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho

1. Óxido de cálcio 2. Hidróxido de cálcio 3. Endodontia I. Título

ROBERTO ALMELA HOSHINO

**PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS, ANTIMICROBIANAS E BIOLÓGICAS DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS COM ÓXIDO DE CÁLCIO E RESINA
SALICILATO.**

Dissertação para obtenção do grau de mestre.

Comissão Julgadora.

Orientador: Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho - Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho” Campus de Araraquara (FOAR).

2º Examinador: Prof^a. Dr^a. Juliane M. Guerreiro Tanomaru - Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho” Campus de Araraquara (FOAR).

3º Examinador: Prof. Dr. Prof.Dr.Luciano Tavares Angelo Cintra - Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho” Campus de Araçatuba (FOA).

Araraquara, 28 de Março de 2016.

Dados Curriculares

ROBERTO ALMELA HOSHINO

NASCIMENTO: 10 de Outubro de 1990 – São José do Rio Preto – SP.

FILIAÇÃO:

- Roberto Kioshi Hoshino
- Rosangela Maria Almela Hoshino

2009-2013: Graduação em Odontologia pelo Centro Universitário do Norte Paulista, UNORP, São José do Rio Preto – SP.

2014-2016: Mestrado em Odontologia, área de concentração em Endodontia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Faculdade de Odontologia de Araraquara.

Dedicatória

Dedico esta dissertação às pessoas mais importantes da minha vida...

Primeiramente a **Deus**, inteligência suprema do Universo, causa de tudo o que existe, fonte de vida, sabedoria e inspiração superior.

Aos meus queridos pais, **Roberto e Rosangela**, exemplos de luta, dignidade e honestidade. Obrigado pela sua força, por sua dedicação, por toda a sua capacidade de compreensão, por sua confiança em mim, enfim, pela sua presença em minha vida. Esta vitória é nossa!

À minha irmã, **Isis**, pela convivência todos esses anos e que mesmo à distância sempre me ajudou e torceu pela minha vitória.

À minha namorada, **Renata**, que me fez acreditar que sonhos são possíveis de serem realizados, mesmo quando todas as adversidades da vida dizem que não.

Ao meu amigo, **Prof. Dr. Guilherme**, pela disponibilidade, incentivo, compreensão, atenção e pelas preciosas considerações para a melhoria de minha pesquisa, é uma honra de tê-lo em como amigo.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**, pelas orientações teóricas, pela paciência, pelas palavras de alívio e conforto, por ter se tornado uma grande amigo para a vida.

Agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho**, sua generosidade, humildade, bondade, ética e conhecimento. Sou grato eternamente pela força de todos os dias, para que eu pudesse me superar e conseguir com isso, fazer parte de um mundo novo, o qual tanto sonhei.

À **Profª. Drª. Juliane M. Guerreiro Tanomaru**, pela disponibilidade e direcionamentos, os quais me permitiram seguir "pontos de orientação" confiáveis para esta dissertação.

Aos professores **Dr. Paulo Sérgio Cerri** e **Drª. Estela Sasso Cerri**, por possibilitar a concretização de parte deste trabalho e obrigado por sempre ser prestativo e acreditar em meu potencial e contribui para a construção desta dissertação. Agradeço pela paciência, tranquilidade e incentivo, lhe tenho como exemplo de competência e perseverança.

Aos professores do Departamento de Endodontia desta Instituição: **Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert**, **Profª. Drª. Gisele Faria**, **Profª. Drª. Juliane M. Guerreiro Tanomaru**, **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**, **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**, **Prof. Dr. Renato de Toledo Leonardo** e **Prof. Dr. Mario Tanomaru Filho**. Meu respeito pelo aprendizado e pelas lições transmitidas. Obrigado pela oportunidade de convívio, pelo companheirismo, amizade, pelos conhecimentos divididos, paciência e dedicação extrema...profissionais exemplares e pessoas maravilhosas que adorei ter conhecido.

À **Drª Roberta Bosso**, pela ajuda fundamental na realização de todo este trabalho.

À **Luis Antônio Potenza** e **Pedro Sergio Simões**, pela amizade e pelos ensinamentos laboratoriais. Pela dedicação e capricho durante todo o processamento histológico.

Aos colegas **Fernanda**, **Derik**, **Aline**, **Tiago**, **Rodrigo**, **Laurie**, **Camila Nascimento**, **Camila Espir**, **Gisele**, **Larissa**, **Fabiane**, **Juliana** e **Gabriela** pela boa convivência e por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Aos membros da banca examinadora, **Profª. Drª. Juliane M. Guerreiro Tanomaru**, **Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra** e ao meu orientador, **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**, pela valiosa e fundamental colaboração para a finalização desta dissertação. Obrigado pela disponibilidade que dedicaram de maneira tão brilhante na leitura deste trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, **Alexandre** e **Cristiano**, pelo profissionalismo e pela ajuda sempre que preciso.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araraquara por toda ajuda e atenção que sempre colocaram à disposição. Deixo registrado meu agradecimento em especial para **Ana Cristina Jorge**, **Maria Inês Carlos** e **Ceres Maria Carvalho Galvão de Freitas**.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora, **Creusa, Marinho, Vanderlei, Izabel e Alessandra**. Muito obrigada pela amizade, permanecerão para sempre no meu coração.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram na elaboração e na melhora desta tese, contribuindo para que eu atingisse esta meta.

Resumo

Hoshino RA. Propriedades físicas, químicas, antimicrobianas e biológicas de cimentos endodônticos com óxido de cálcio e resina salicilato [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

Resumo

O cimento endodôntico Sealapex® (SL) contém óxido de cálcio e resina de salicilato. Apexit® Plus (AP) é um cimento com sais de cálcio (hidróxido, óxido, fosfato) que apresenta reação química com resina salicilato. O objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades físicas, químicas, antimicrobianas e biológicas do cimento AP comparando-os ao SL. Os testes para avaliação de pH, tempo de presa, solubilidade, escoamento e radiopacidade foram realizados. A atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos foi avaliada por meio de contato direto com *Enterococcus faecalis* em fase planctônica. Os resultados mostram que os cimentos endodônticos estão de acordo com os padrões mínimos sugeridos pela ADA, para os testes de escoamento e radiopacidade. Entretanto, SL apresenta tempo de presa e solubilidade maiores comparado ao AP. Os materiais apresentam potencial de alcalinização semelhante em todos os períodos de avaliação, entretanto, o AP apresenta maior atividade antimicrobiana em comparação ao SL.

Para avaliação da reação tecidual provocada pelos materiais, foram implantados tubos de polietileno com os cimentos endodônticos e vazios (Controle) em subcutâneo de ratos. Após 7, 15, 30 e 60 dias, os animais foram sacrificados e os tubos com o tecido adjacente removidos e submetidos ao processamento histológico. Os cortes foram corados em H/E para a realização da análise morfológica, considerando a presença ou não de processo inflamatório, bem como a sua extensão e o tipo de células inflamatórias, presença de células gigantes multinucleadas, vasos sanguíneos, fibroblastos e a mensuração de colágeno foi realizada com coloração Picrosirius sob luz polarizada. Os resultados indicam que os cimentos promovem uma reação inflamatória no período de 7 dias e uma diminuição no número de células inflamatórias na cápsula adjacente aos implantes em períodos experimentais mais longos sendo evidenciada principalmente no SL e controle. Os resultados mostram que o SL induziu a melhor resposta de reparo tecidual em comparação ao AP, e demonstrou aumento na porcentagem de fibras colágenas birrefringentes em todos os períodos. Os dois materiais apresentaram biocompatibilidade.

Palavras-chave: Óxido de cálcio. Hidróxido de cálcio. Endodontia.

Abstract

Hoshino RA. Physical, chemical, antimicrobial and biological properties of sealers with calcium oxide and salicylate resin [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2016.

Abstract

Endodontic sealer Sealapex[®] (SL) presents calcium oxide and salicylate resin in its formulation. Apexit[®] Plus (AP) is a sealer that contains calcium salts (hydroxide, oxide, phosphate) and has chemical reaction with salicylate resin. This study aims to evaluate the physical, chemical, antimicrobial and biological properties of AP, comparing to SL. Tests of pH, setting time, solubility, flow and radiopacity were done for both materials. . The antimicrobial activity was evaluated by the direct contact test with *Enterococcus faecalis* in bacterial suspension. Results confirm that these endodontic sealers are according to #57 ADA specification, to the flow and radiopacity tests. However, SL presented higher setting time and solubility compared to AP. The materials showed similar alkalization potential in all periods, the AP has larger antimicrobial activity compared to SL. For the evaluation of the tissue reaction induced by the materials, polyethylene tubes containing the sealers were implanted in the rat subcutaneous; empty tubes were used as control. After 7, 15, 30 and 60 days, the animals were euthanized and the tubes with adjacent tissue were removed and submitted to histological procedures. HE-stained sections were used to morphologic analysis, considering the presence or absence of inflammation, as well as the extent and type of inflammatory cells, the presence of multinucleated giant cells, blood vessels, fibroblasts. Sections staining with Picrosirius red was used to measure the collagen content in polarized light. Data indicate that cements promote an inflammatory reaction at 7 days; after this period, a significant and gradual decreasing was observed in the number of inflammatory cells, especially in SL and control. Our results show that the SL induce to a tissue repair more gradually than the sealer AP, that demonstrated an increase on the percentage of birefringent collagen fibers after 60 days. The two materials showed biocompatibility.

Key words: Calcium oxide. Calcium hydroxide. Endodontic.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	14
3 PUBLICAÇÃO	15
3.1 Publicação 1	15
3.2 Publicação 2	29
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
5 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO	52

1 INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica é uma sequência de etapas operatórias interdependentes, sendo importante o controle da infecção e a prevenção de recontaminação do sistema de canais radiculares, que será obtida com a obturação do canal radicular e restauração coronária definitiva (Siqueira Jr et al.⁴⁴, 2004).

A obturação dos canais radiculares deve promover selamento do sistema de canais radiculares e, se possível, estimular o processo de reparo apical e periapical após o tratamento endodôntico (Whirworth⁵², 2005; Ari et al.², 2010).

Frequentemente, a obturação do canal radicular é realizada pela associação de material sólido, cones de guta-percha ou resilon, com cimento endodôntico (Jainaen et al.²⁷, 2007; Souza et al.⁴⁶, 2009). Os cones ocupam o espaço central, e o cimento deve preencher irregularidades do sistema de canais radiculares, procurando minimizar a desadaptação entre paredes e guta-percha.

Assim, o cimento poderá obturar eventuais canais acessórios existentes, dificultando a percolação de fluidos teciduais e micro-organismo por via cervical e apical, impedindo a infecção ou reinfecção do sistema de canais radiculares (Schilder³⁵, 1967; Whitworth⁵², 2005).

Apesar da grande quantidade de cimentos endodônticos disponíveis no mercado, ainda não há um material que possa ser considerado ideal. Diante desta dificuldade, torna-se importante o estudo das propriedades físicas, químicas, antimicrobianas e biológicas dos cimentos endodônticos para o uso clínico. Um material para ser utilizado na obturação dos canais radiculares deve ser radiopaco, não sofrer contração, além de apresentar atividade antimicrobiana e biocompatibilidade (Grossman²², 1988; Wu et al.⁵³, 2004; Kim et al.²⁹, 2010; Chang et al.¹², 2014).

Em 1936, Grossman²² introduziu na endodontia os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, sendo consagrado seu uso somente em 1958. Desde então, tem sido amplamente manuseado pelos profissionais brasileiros devido à fácil manipulação, inserção no canal radicular, tempo de trabalho adequado e baixo custo (Leonardo, Leal³², 2005). No entanto, no requisito de biocompatibilidade, o cimento à base de óxido de zinco e eugenol, apresenta propriedade insatisfatória devido, principalmente, ao comportamento irritante do eugenol.

Estudos com implantes de tubos de polietileno no subcutâneo mostram que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol proporcionam uma resposta inflamatória intensa, mesmo em períodos prolongados (Becker et al.⁵, 1983; Blackman et al.⁷, 1989; Kolokouris et al.³⁰, 1998; Batista et al.⁴, 2007). Há evidência que este material promove uma necrose dos tecidos apicais, acompanhada de extenso processo inflamatório crônico na região periapical (Leonardo et al.³¹, 1998; Tanomaru-Filho et al.⁴⁸, 1998; Tanomaru-Filho et al.⁴⁷, 2009) e destruição do processo alveolar, seguido por um aumento do espaço do ligamento periodontal (Silva et al.⁴¹, 2011).

A adição do hidróxido de cálcio às fórmulas dos cimentos obturadores foi idealizada com o objetivo de melhorar as propriedades biológicas desses materiais. Já foi demonstrado que o hidróxido de cálcio contribui para o reparo apical e periapical, uma vez que, o pH alcalino e a liberação de íons cálcio deste material promovem efeitos bioquímicos que auxiliam na aceleração do processo de reparo tecidual (Binnie et al.⁶, 1973; Seux et al.³⁸, 1991; Estrela et al.¹⁶, 1995).

Um dos cimentos endodônticos mais comumente utilizados, que contém óxido de cálcio, é o Sealapex[®] (SL). Este material apresenta biocompatibilidade e selamento marginal apical eficiente (Valera et al.⁴⁹, 2005), uma vez que, induz o fechamento apical por deposição osteocementária (Chang et al.¹², 2014). Além disso, possui algumas propriedades físicas e químicas satisfatórias, tais como plasticidade, viscosidade e escoamento (Valera et al.⁴⁹, 2005). Entretanto, não possui a radiopacidade desejada e em alguns casos, profissionais agregam algumas substâncias radiopacas ao cimento, tais como iodofórmio ou óxido de zinco, para facilitar uma visualização em relação aos tecidos dentários subjacentes. (Valera et al.⁴⁹, 2005). Atualmente, os componentes radiopacificadores são trióxido de Bismuto e óxido de zinco.

O cimento SL apresenta níveis de solubilidade compatíveis aos requisitos exigidos pelas normas da ANSI / ADA; especificação nº57, para materiais endodônticos (Ersahan et al.¹⁵, 2013; Cañadas et al.¹¹, 2014). Acredita-se que a solubilidade e o pH elevados permitam a estimulação das células mesenquimais do periodonto apical que se diferenciam, estimulando a deposição de tecido mineralizado na região apical (Valera et al.⁵⁰, 2000). A solubilidade e o pH elevados deste material estão relacionados ao aumento da atividade antimicrobiana em biofilmes bacterianos (Faria et al.¹⁸, 2013).

Já foi demonstrado também que o SL apresenta baixa eficácia contra a bactéria *Enterococcus faecalis* (Heyder et al.²⁴, 2013). Além disso, Kazemi²⁸ (1993), sugeriu que ocorre uma desintegração com o passar tempo deste cimento devido a absorção de água, causando falhas na interface dentina / material e, conseqüentemente, elevando os níveis de infiltração (Valera et al.⁵⁰, 2000).

Com o objetivo de melhorar as características dos cimentos que contém óxido de cálcio, em 2008, foi desenvolvido o Apexit[®] Plus (AP) (Slutzky-Goldberg et al.⁴⁵, 2008), que apresenta na composição sais de cálcio (hidróxido, óxido, fosfato), colofônia hidrogenada, di-salicilato, sais de bismuto (óxido, carbonato), dióxido de silício altamente disperso (silanizado) e alquil-éster do ácido fosfórico. Segundo o fabricante, este cimento não exibe contração durante a reação de presa e demonstra excelentes propriedades físicas e biológicas, sendo um sistema de dois componentes (a base e o catalisador são fornecidos em seringas de dupla pressão).

Ainda de acordo com o fabricante, a umidade encontrada nos túbulos dentinários favorece a reação de presa, iniciando-se primeiramente no ápice radicular, pelo fato da dentina possuir uma espessura menor.

O cimento AP apresenta tempo de presa, escoamento, radiopacidade e solubilidade dentro dos padrões exigidos pelas normas da ANSI/ADA 2000 especificação nº57 (Marín et al.³³, 2012; Xuereb et al.⁵⁴, 2014). Estudo in vitro mostrou que este material apresenta efeitos citotóxicos em períodos iniciais, porém, sendo considerado biocompatível com o passar do tempo (Badole et al.³, 2013). Além disso, há relatos de que este cimento não apresenta citotoxicidade, utilizando ensaio de MTT para determinar a viabilidade celular (Yilmaz et al.⁵⁵, 2012).

O AP apresenta eficácia antibacteriana contra *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis* (Heyder et al.²⁴, 2013), contudo, sua ação antibacteriana não é eficaz contra *Enterococcus faecalis* (Slutzky-Goldberg et al.⁴⁵, 2008), havendo a aderência microbiana e formação de biofilme utilizando dentes bovinos (Senges et al.³⁷, 2011). Com a finalidade de melhora de sua atividade antibacteriana, vem sendo proposta a incorporação de substâncias à sua formulação, tais como, cloreto de benzalcônio, cloreto de cetilpiridínio (Gjorgievska et al.²⁰, 2013) e hinokitiol (Shih et al.⁴⁰, 2014), tornando-o resistente também à *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* e *Actinomyces viscosus*.

O AP apresenta melhor capacidade de vedação quando comparados a outros cimentos endodônticos como, por exemplo, o AH Plus (Salz et al.³⁴, 2009),

entretanto, estudos mostram que o cimento AP possui baixos valores de adesão à dentina radicular, independente do tratamento realizado nas paredes dos canais radiculares (Haragushiku et al.²³, 2010). Além disso, este cimento não apresenta alterações em suas propriedades físicas e químicas, durante a obturação do canal radicular utilizando a técnica de condensação vertical aquecida (Camilleri¹⁰, 2015), porém, foi verificado que o AP proporciona uma alteração de coloração do dente após a obturação (El Sayed et al.¹⁴, 2013).

Atualmente, ainda são insuficientes os estudos das propriedades do AP. Assim, torna-se oportuno, um trabalho que avalie algumas propriedades físicas, químicas, antimicrobianas e biológicas, com o objetivo de elucidar suas características.

5 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais em que esta pesquisa foi desenvolvida e com base nos resultados obtidos, podemos concluir que;

- Os cimentos Apexit[®] Plus e Sealapex[®] apresentaram propriedades físicas, químicas e antimicrobianas satisfatórias;
- Os resultados do teste de biocompatibilidade mostraram uma reação inflamatória intensa no período de 7 dias, para ambos os cimentos, havendo uma diminuição estatisticamente significativa no período de 60 dias, principalmente no cimento Sealapex. No entanto, ainda há necessidade de outros estudos para melhores conclusões.

REFERÊNCIAS*

1. American Dental Association - ANSI/ADA . Specification 57: endodontic sealing material. Chicago: ANSI/ADA; 2000.
2. Ari H, Belli S, Gunes B. Sealing ability of Hybrid Root SEAL (MetaSEAL) in conjunction with different obturation techniques. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010; 109(6): e113-6.
3. Badole GP, Warhadpande MM, Meshram GK, Bahadure RN, Tawani SG, Tawani G et al. A comparative evaluation of cytotoxicity of root canal sealers: an in vitro study. Restor Dent Endod. 2013; 38(4): 204-9.
4. Batista RF, Hidalgo MM, Hernandez L, Consolaro A, Velloso TR, Cuman RK, et al. Microscopic analysis of subcutaneous reactions to endodontic sealer implants in rats. J Biomed Mater Res A. 2007; 81(1): 171-7.
5. Becker RM, Hume WR, Wolinsky LE. Release of eugenol from mixtures of in vitro. J Pedod. 1983; 8(1):71-7.
6. Binnie WH, Mitchell DF. Induced calcification in the subdermal tissues of the rat. J Dent Res. 1973; 52(5): 1087-91.
7. Blackman R, Gross M, Seltzer S. An evaluation of the biocompatibility of a glass ionomer-silver cement in rat connective tissue. J Endod. 1989; 15(2): 76-9.
8. International Organization for Standardization . ISO 6876: dental root canal sealing materials. Geneva: ISO; 2002.
9. Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. Int Endod J. 1985; 18(1) :35-40.
10. Camilleri J. Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. J Endod. 2015; 41(1): 72-8.
11. Cañadas PS, Berástegui E, Gatón-Hernández P, Silva LA, Leite GA, Silva RS. Physicochemical properties and interfacial adaptation of root canal sealers. Braz Dent J. 2014; 25(5): 435-41.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca:
<http://www.foar.unesp.br/#biblioteca/manual>.

12. Chang SW, Lee SY, Kang SK, Kum KY, Kim EC. In vitro biocompatibility, inflammatory response, and osteogenic potential of 4 root canal sealers: Sealapex, Sankin apatite root sealer, MTA Fillapex, and iRoot SP root canal sealer. *J Endod.* 2014; 40(10): 1642-8.
13. Desai S, Chandler N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. *J Endod.* 2009; 35(4): 475-80.
14. El Sayed MA, Etemadi H. Coronal discoloration effect of three endodontic sealers: an in vitro spectrophotometric analysis. *J Conserv Dent.* 2013; 16(4): 347-51.
15. Ersahan S, Aydin C. Solubility and apical sealing characteristics of a new calcium silicate-based root canal sealer in comparison to calcium hydroxide-, methacrylate resin- and epoxy resin-based sealers. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71(3-4): 857-62.
16. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995; 6(2): 85-90.
17. Faria G, Nelson-Filho P, Freitas AC, Assed S, Ito IY. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (Calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. *J Appl Oral Sci.* 2005; 13(4): 351-5.
18. Faria-Júnior 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.
19. Fukuto TR. Toxicological properties of trialkyl phosphorothioate and dialkyl alkyl- and arylphosphonothioate esters. *J Environ Sci Health B.* 1983; 18(1): 89-117.
20. Gjorgievska E, Apostolska S, Dimkov A, Nicholson JW, Kaftandzieva A. Incorporation of antimicrobial agents can be used to enhance the antibacterial effect of endodontic sealer. *Dent Mater.* 2013; 29(3): e29-34.
21. Gomes BP, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, et al. Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 2004; 19(2): 71-6.
22. Grossman LI, Oliet S, Del Rio CE, *Endodontic practice* 11th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1988.

23. Haragushiku GA, Sousa-Neto MD, Silva-Sousa YT, Alfredo E, Silva SC, Silva RG. Adhesion of endodontic sealers to human root dentine submitted to different surface treatments. *Photomed Laser Surg.* 2010; 28(3): 405-10.
24. Heyder M, Kranz S, Völpel A, Pfister W, Watts DC, Jandt KD, et al. Antibacterial effect of different root canal sealers on three bacterial species. *Dent Mater.* 2013; 29(5): 542-9.
25. Húngaro Duarte MA, de Oliveira El Kadre GD, Vivan RR, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru Filho M, de Moraes IG. Radiopacity of protland cement associated with different radiopacifying agents. *J Endod.* 2009; 35(5): 737-40.
26. Hungaro Duarte MA, Minotti PG, Rodrigues CT, Zapata RO, Bramante CM, Tanomaru Filho M, et al. Effect of different radiopacifying agents on the physicochemical properties of white Portland cement and whitemineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012; 38(3): 394-7.
27. Jainan A, Palamara JE, Messer HH. Push-out bond strengths of the dentine-sealer interface with and without a main cone. *Int Endod J.* 2007; 40(11): 882-90.
28. Kazemi RB, Safavi KE, Spångberg LS. Dimensional changes of endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993; 76(6): 766-71
29. Kim YK, Grandini S, Ames JM, Gu LS, Kim SK, Pashley DH, et al. Critical review on methacrylate resin-based root canal sealers. *J Endod.* 2010; 36(3): 383-99.
30. Kolokouris I, Economides N, Beltes P, Vlemmas I. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod.* 1998; 24(2): 82-5.
31. Leonardo MR, Almeida WA, da Silva LA, Utrilla LS. Histological evaluation of the response of apical tissues to glass ionomer and zinc oxide-eugenol based sealers in dog teeth after root canal treatment. *Endod Dent Traumatol.* 1998; 14(6): 257-61.
32. Leonardo MR, Leal JM. Materiais obturadores de canais radiculares. In: Leonardo MR. *Endodontia - tratamento de canais radiculares.* São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 1063-145.
33. Marín-Bauza GA, Silva-Sousa YT, da Cunha SA, Rached-Junior FJ, Bonetti-Filho I, Sousa-Neto MD, et al. Physicochemical properties of endodontic sealers of different bases. *J Appl Oral Sci.* 2012; 20(4): 455-61.
34. Salz U, Poppe D, Sbicego S, Roulet JF. Sealing properties of a new root canal sealer. *Int Endod J.* 2009; 42(12): 1084-9.

35. Schilder H. Filling root canals in three dimensions. 1967. *J Endod.* 2006; 32(4): 281-90.
36. Seelan RG, Kumar AA, Emil Sam RJ, Maheswari SU. Antimicrobial efficacy of different root canal sealers by using real-time polymerase chain reaction: an ex vivo study. *J Conserv Dent.* 2015; 18(6): 474-8.
37. Senges C, Wrbas KT, Altenburger M, Follo M, Spitzmüller B, Wittmer A et al. Bacterial and *Candida albicans* adhesion on different root canal filling materials and sealers. *J Endod.* 2011; 37(9): 1247-52.
38. Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. *Arch Oral Biol.* 1991; 36(2): 117-28.
39. Shahi S, Rahimi S, Yavari HR, Mokhtari H, Roshangar L, Abasi MM et al. Effect of mineral trioxide aggregates and Portland cements on inflammatory cells. *J Endod.* 2010; 36(5): 899-903.
40. Shih YH, Lin DJ, Chang KW, Hsia SM, Ko SY, Lee SY et al. Evaluation physical characteristics and comparison antimicrobial and antiinflammation potentials of dental root canal sealers containing hinokitiol in vitro. *PLoS One.* 2014; 10;9(6): e94941.
41. Silva-Herzog D, Ramírez T, Mora J, Pozos AJ, Silva LA, Silva RA et al. Preliminary study the inflammatory response to subcutaneous implantation of three root canal sealers. *Int Endod J.* 2011; 44(5): 440-6.
42. Siqueira JF Jr, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999; 32(5): 361-9.
43. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Alves FR, Santos KR. Selected endodontic pathogens in the apical third of infected root canals: a molecular investigation. *J Endod.* 2004; 30(9): 638-43.
44. Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J.* 1991; 24(3): 119-25.
45. Slutzky-Goldberg I, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, Weiss EI, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. *J Endod.* 2008; 34(6): 735-8.
46. Souza EM, Wu MK, van der Sluis LW, Leonardo RT, Bonetti-Filho I, Wesselink PR. Effect of filling technique and root canal area on the percentage of gutta-percha in laterally compacted rootfillings. *Int Endod J.* 2009; 42(8): 719-26.
47. Tanomaru Filho M, Chaves Faleiros FB, Saçaki JN, Hungaro Duarte Ma, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of pH and calcium ion release of root-end filling materials containing calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2009; 35(10): 1418-21.

48. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Utrilla LS. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic periradicular periodontitis. *Int Endod J*. 1998; 31(2): 85-9.
49. Valera MC, Anbinder AL, Carvalho YR, Balducci I, Bonetti Filho I, Consolaro A. Avaliação da compatibilidade biológica do cimento Sealapex® e deste cimento acrescido de iodofórmio ou óxido de zinco. *Cienc Odontol Bras*. 2005; 8(4): 29-3.
50. Valera MC, Anbinder AL, Leonardo MR, Parizoto NA, Kleine M U. Cimentos endodônticos: análise morfológica imediata e após seis meses utilizando microscopia de força atômica. *Pesqui Odontol Bras*, 2000; 14(3) 199-204.
51. Veloso HH, do Santos RA, de Araújo TP, Leonardi DP, Baratto Filho F. Histological analysis of the biocompatibility of three different calcium hydroxide-based root canal sealers. *J Appl Oral Sci*. 2006; 14(5): 376-81.
52. Whitworth J, Methods of filling root canals: principles and practices. *Endod Topics*. 2005; 12(1): 2-24.
53. Wu MK, Van Der Sluis LW, Wesselink PR. Fluid transport along gutta-percha backfills with and without sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 97(2): 257-62.
54. Xuereb M, Vella P, Damidot D, Sammut CV, Camilleri J. In situ assessment of the setting of tricalcium silicate-based sealers using a dentin pressure model. *J Endod*. 2015; 41(1): 111-24.
55. Yilmaz Z, Dogan AL, Ozdemir O, Serper A. Evaluation of the cytotoxicity of different root canal sealers on L929 cell line by MTT assay. *Dent Mater J*. 2012; 31(6): 1028-32.