



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

VERYDIANNA FROTA CARNEIRO

**EFEITO DA AGITAÇÃO ULTRASSÔNICA NA PENETRAÇÃO
INTRATUBULAR E NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA RADICULAR
DE CIMENTOS OBTURADORES À BASE DE SILICATO DE CÁLCIO**

FORTALEZA-CE

2020

VERYDIANNA FROTA CARNEIRO

EFEITO DA AGITAÇÃO ULTRASSÔNICA NA PENETRAÇÃO INTRATUBULAR
E NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA RADICULAR DE CIMENTOS
OBTURADORES À BASE DE SILICATO DE CÁLCIO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Carvalho de Vasconcelos.

FORTALEZA-CE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C291e Carneiro, Verydianna Frota.
EFEITO DA AGITAÇÃO ULTRASSÔNICA NA PENETRAÇÃO INTRATUBULAR E NA
RESISTÊNCIA DE UNIÃO À DENTINA RADICULAR DE CIMENTOS OBTURADORES À BASE DE
SILICATO DE CÁLCIO / Verydianna Frota Carneiro. – 2020.
51 f.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Bruno Carvalho de Vasconcelos.
1. Endodontia. 2. Obtenção do canal radicular. 3. Ultrassom. 4. Microscopia Confocal. I. Título.
CDD 617.6
-

Dedico a Deus por ser tão presente e essencial em minha vida. Autor da minha fé, meu guia que nunca me abandonou.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a **DEUS**, que em sua imensa bondade me deu forças para vencer cada desafio desta caminhada e confiança para acreditar em mim mesma, possibilitando, assim meu crescimento pessoal e profissional.

A minha família, que sempre esteve ao meu lado e torce muito pelo meu sucesso. Em especial aos meus pais, **JOSE NEI CARNEIRO** e **ANA RITA PEDROSA FROTA**, grandes exemplos que, sempre com muito amor, me apresentaram a importância dos estudos para minha evolução como ser humano. A minha irmã, **RITHIANNE FROTA CARNEIRO**, melhor amiga e cúmplice de todos os momentos alegres e tristes. Estar cursando a pós-graduação nesse momento estreitou mais nossos laços e trocas. Ao meu 1º sobrinho, **CARLOS ARARIPE NETO CARNEIRO**, que traduziu toda sua doçura e amor em seus vários sorrisos.

Ao meu orientador, **DR. BRUNO CARVALHO DE VASCONCELOS**, pelo apoio e conhecimento compartilhado. Um grande exemplo de profissional competente e criterioso no empenho de entregar uma pesquisa relevante na área de atuação.

À Faculdade de Farmácia, Enfermagem e Odontologia da Universidade Federal do Ceará (FFOE-UFC) e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) por ter me proporcionado a realização do mestrado e por toda ajuda durante o decorrer do curso.

À Profa. **Dra. MÔNICA SAMPAIO DO VALE** pela inúmeros conhecimentos repassados durante o mestrado. De forma muito amorosa me acolheu nas disciplinas de Estágio à Docência I e II. Representa uma grande inspiração na docência e na Endodontia.

Aos Profs. **Dr. ELILTON CAVALCANTE PINHEIRO JUNIOR**, **Dr. JULIANO SARTORI MENDONÇA** e **Dr. RODRIGO OTÁVIO CITÓ CÉSAR RÊGO** pela disponibilidade em participar da banca avaliadora desta defesa. Antecipadamente agradeço as valiosas contribuições para o trabalho.

Aos alunos do mestrado e doutorado da área de concentração em Endodontia do PPGO-UFC, pela ajuda nos inúmeros momentos, pelo apoio e pelas palavras de incentivo. Em especial ao **BERNARDO ALMEIDA AGUIAR**, que sempre se mostrou um amigo disponível para ajudar na minha pesquisa e que merece todo o sucesso.

Aos amigos de pós-graduação, **NAYARA DE OLIVEIRA SOUZA**, **ISABELLY DE CARVALHO LEAL** e **SUSSAN DANIELA SALAZAR SEGALÉS**, pelo apoio incondicional nessa jornada. Ela não teria sido a mesma sem vocês. Espero

levar a amizade de vocês para sempre. E todos os demais colegas do mestrado que somaram esforços nessa trajetória.

À Faculdade de Odontologia de Bauru, em nome dos professores, **Dr. MARCO ANTONIO HUNGARO DUARTE** e **Dr. RODRIGO RICCI VIVAN**, que se fizeram disponíveis para possibilitar a análise das amostras na microscopia confocal.

Ao Centro Integrado de Pesquisa da Universidade de São Paulo de Bauru (USP–BAURU), em especial à servidora **PROF^a. MÁRCIA SIRLENE ZARDIN GRAEFF** que, com muita competência e disponibilidade, realizou a análise das amostras no microscópio confocal, indispensável para meu trabalho.

Por fim, agradeço a todos amigos que de alguma forma contribuíram na minha caminhada até aqui.

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito da agitação ultrassônica na penetração intratubular e na resistência de união à dentina radicular de três cimentos obturadores endodônticos à base de silicato de cálcio, comparando-os ao AH Plus. Noventa e seis canais de raízes distovestibulares de molares superiores humanos foram preparados com instrumentos Reciproc R50, sob irrigação com NaOCl à 2,5%. Os mesmos foram, em seguida, submetidos a protocolo de limpeza final de irrigação ultrassônica passiva com soluções de NaOCl à 2,5%, EDTA à 17% e NaOCl à 1,0%, de maneira sequencial, realizando-se 3 ciclos de 20 segundos em cada uma delas. Os canais foram então randomicamente divididos em 8 grupos experimentais em função do cimento/tratamento a ser empregado ($n = 12$): EndoSequence BC Sealer (ESBC), Sealer Plus BC (SPBC), Bio-C Sealer (BCS) e AH Plus (AH); com ou sem agitação ultrassônica (AUS). A obturação dos canais foi realizada pela técnica do cone único com guta-percha associada aos cimentos que foram manipulados conforme a recomendação dos fabricantes; o fluoróforo Fluo-3 foi incorporado aos cimentos (0,1% g/g) como forma de viabilizar a avaliação da penetração. Após a inserção dos cimentos, nos grupos submetidos a AUS, a mesma foi empregada em 2 ciclos de 20 segundos na potência de 30%. Concluídas as obturações, as raízes foram mantidas em estufa a 37°C por 7 dias. Em seguida, os espécimes foram seccionados transversalmente a 2, 4 e 6 mm do ápice anatômico; as secções foram preparadas e levadas ao Microscópio de Varredura Confocal à Laser para a determinação da profundidade de penetração nos túbulos dentinários (mm). Posteriormente, os espécimes foram submetidos ao teste de push-out em máquina de ensaio universal para avaliar a resistência de união; os resultados obtidos em Newtons foram transformados em MPa e o tipo de falha determinado em microscopia de luz com 40x de aumento. Os resultados da análise da penetração apontaram que a AUS não influenciou significativamente os valores de penetração intratubular. Levando-se em conta os materiais, diferenças significantes foram observadas entre ESBC frente ao BCS e AH, todos sem AUS, a 2,0 mm do ápice radicular ($p < 0,05$). No teste de push-out, observou-se que a AUS incrementou a resistência de união à dentina radicular significativamente nos grupos SPBC a 2,0 mm e BCS a 6,0 mm ($p < 0,05$). Quando considerados os materiais com o mesmo tratamento, diferenças significantes foram observadas entre os grupos AH e ESBC, tanto com quanto sem AUS, a 2,0 mm ($p < 0,05$). Em função dos resultados, nas condições do presente estudo, pode-se concluir que a agitação ultrassônica não influenciou na penetração intratubular, mas aumentou significativamente os parâmetros da resistência de união nos grupos BCS, no nível mais cervical, e SPBC, no nível mais apical; ainda, que os cimentos biocerâmicos testados apresentaram padrão de penetração intratubular e de resistência de união muito parecidos entre si e com o AH Plus.

Palavras-chave: Endodontia. Obturação do canal radicular. Ultrassom. Microscopia Confocal.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of ultrasonic agitation on intratubular penetration and bond strength to root dentin provided by three calcium silicate-based endodontic obturator sealers, comparing them to AH Plus. Ninety-six disto-buccal canals in maxillary of human molars were prepared with Reciproc R50 files under irrigation with 2.5% NaOCl. They were then subjected to a final cleaning protocol with passive ultrasonic irrigation using NaOCl solutions at 2.5%, EDTA at 17% and NaOCl at 1.0%, sequentially, performing 3 cycles of 20 seconds in each one of them. Canals were then randomly divided into 8 experimental groups according to the sealer/treatment to be employed ($n = 12$): EndoSequence BC Sealer (ESBC), Sealer Plus BC (SPBC), Bio-C Sealer (BCS) and AH Plus (AH); with or without ultrasonic agitation (AUS). The filling of the canals was performed by the single cone technique with gutta-percha associated with the sealer that were manipulated as recommended by the manufacturers; Fluo-3 fluorophore was incorporated into the sealers (0.1% g/g) as a means of assessing penetration. After sealer insertion, in the groups submitted to AUS, it was used 2 cycles of 20 seconds at 30% power. After filling, the roots were kept in 37°C for 7 days. The specimens were sectioned transversely at 2, 4 and 6 mm from the anatomical apex; The sections were prepared and taken to the Laser Scanning Confocal Microscope to determine the depth of penetration into the dentinal tubules (mm). Subsequently, the specimens were submitted to the push-out test in a universal testing machine to evaluate the bond strength; the results obtained in Newtons were transformed into MPa and the type of failure determined in light microscopy with 40x magnification. The results of the penetration analysis showed that AUS did not significantly influence the intratubular penetration values. Considering into account the materials, significant differences were observed between ESBC compared to BCS and AH, all without AUS, at 2.0 mm from the root apex ($p < 0.05$). In the push-out test, it was observed that AUS significantly increased the bond strength in the SPBC groups at 2.0 mm and BCS at 6.0 mm ($p < 0.05$). When considering materials with the same treatment, significant differences were observed between groups AH and ESBC, both with and without AUS, at 2.0 mm ($p < 0.05$). Depending on the results, under the conditions of the present study, it can be concluded that ultrasonic agitation did not influence intratubular penetration, but significantly increased the parameters of bond strength in the BCS groups, at the most cervical level, and SPBC, at the most apical level; also, that the tested bioceramic sealers showed a pattern of intratubular penetration and bond strength very similar to each other and with AH Plus.

Keywords: Endodontics. Root canal obturation. Ultrasonics. Microscopy, Confocal.

LISTA DE ABREVIACÕES

AH	AH Plus
AUS	Agitação Ultrassônica
BCS	Bio-C Sealer
Ca ²⁺	Íons Cálcio
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
DDS	<i>Doctor of Dental Surgery</i>
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetracético
ESBC	EndoSequence BC Sealer
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
ISSN	<i>International Standard Serial Number</i>
JCE	Junção Cimento-Esmalte
kHz	Quilo-Hertz
MCONF	Microscopia de Varredura Confocal à Laser
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MPa	MegaPascal
N	Newton
nm	Nanômetro
°C	Grau Celsius
pH	Potencial Hidrogeniônico
PUI	Irrigação Ultrassônica Passiva (<i>Passive Ultrasonic Irrigation</i>)
rpm	Rotações por minuto
SCR	Sistema de Canais Radiculares
SL	Área Lateral
SPBC	Sealer Plus BC
TIFF	<i>Tagged Image File Format</i>
UFC	Universidade Federal do Ceará
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2.	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3.	HIPÓTESE.....	16
3.1	Hipótese nula.....	16
4.	CAPÍTULO.....	17
4.1	Capítulo 1	17
5.	CONCLUSÃO GERAL.....	33
	REFERÊNCIAS	34
	ANEXO 1.....	40
	ANEXO 2.....	44

1. INTRODUÇÃO GERAL

O objetivo principal do tratamento endodôntico é alcançar a limpeza adequada do sistema de canais radiculares (SCR), promovendo a modelagem dos condutos e a eficaz desinfecção, e finalizando com a obturação tridimensional do espaço preparado (ARSLAN; ABBAS; KARATAS, 2016). A eliminação da infecção do SCR propicia um ambiente favorável ao reparo das alterações periapicais, enquanto que a permanência de microrganismos direciona para o insucesso do tratamento (CHEN *et al.*, 2017).

Numerosos dispositivos e materiais foram lançados para eliminar as fontes de infecção do SCR, incluindo técnicas de instrumentação, irrigação e medicações intracanal (MALMBERG; BJÖRKNER; BERGENHOLT, 2016). Embora os materiais e as técnicas tenham apresentado uma melhora substancial ao longo do tempo, nenhuma técnica é capaz de limpar e desinfetar completamente esse sistema (CHEN *et al.*, 2017). Neste sentido, atualmente, o objetivo principal da obturação é bloquear, de forma mais efetiva, tridimensionalmente, as vias de infiltração nas direções coronal e apical e sepultar bactérias remanescentes com o preenchimento de todo o espaço do SCR (GHARIB *et al.*, 2007; MAMOOTIL; MESSER, 2007). O resultado bem-sucedido do tratamento endodôntico é alcançado pela vedação proporcionada pelos materiais de obturação (LEE *et al.*, 2019), sendo este preenchimento do canal radicular fundamental para o sucesso do tratamento a longo prazo (CELIK TEN *et al.*, 2019).

Para a obturação do SCR, os materiais mais utilizados são os cones de guta-percha, material em estado sólido, associados a um cimento obturador endodôntico, material em estado plástico (UZUNOGLU-ÖZYÜREK; ERDOĞAN; TÜRKER, 2018). Os cimentos endodônticos devem selar o espaço do canal radicular lateralmente e apicalmente, penetrando nos túbulos dentinários, istmos e canais acessórios, além de apresentar uma boa adaptação à dentina (GUIMARÃES *et al.*, 2014; KUÇI *et al.*, 2014; CAMARGO *et al.*, 2015). Já os cones de guta-percha são caracterizados pela insolubilidade e estabilidade dimensional; todavia, apresentam pouca adaptação às paredes dentinárias (TOPÇUOĞLU *et al.*, 2014; CAMILLERI, 2015).

Sendo os responsáveis pelo selamento e adaptação da obturação às irregularidades anatômicas do SCR, grande importância recai sobre os cimentos, majoritariamente sobre sua capacidade de selamento (MAMOOTIL; MESSER, 2007; UZUNOGLU-ÖZYÜREK; ERDOĞAN; TÜRKER, 2018). Os cimentos obturadores endodônticos apresentam um importante papel no preenchimento das complexidades anatômicas,

aderindo às irregularidades do canal radicular e penetrando nos túbulos dentinários, exercendo as funções de preenchimento tridimensional do SCR e aprisionamento das bactérias remanescentes, mantendo-as longe das fontes de nutrição (SILVA *et al.*, 2015; UZUNOGLU-ÖZYÜREK; ERDOĞAN; TÜRKER, 2018; VERTUAN *et al.*, 2018).

Para o cumprimento desta missão o cimento endodôntico ideal deve apresentar as seguintes propriedades: ser de fácil manipulação, passível de uso em diferentes técnicas, apresentar-se insolúvel aos fluídos bucais, apresentar estabilidade dimensional sem degradação com o tempo, ser radiopaco, apresentar adesividade às paredes do canal, biocompatibilidade, facilidade de remoção em caso de retratamento e ser capaz de aumentar a resistência radicular (WANG; LIU; DONG, 2018).

Para tal, os cimentos obturadores devem apresentar uma grande afinidade à dentina radicular e propriedades que permitam seu escoamento no nível macro e microscópico, principalmente nos túbulos dentinários. Desta forma, poderiam efetivamente confinar os microrganismos remanescentes e impedir sua chegada, ou de suas toxinas, à região apical, ou ainda o aporte de substrato aos mesmos (CHEN *et al.*, 2017). A penetração dos cimentos nos túbulos dentinários pode ser influenciada pela remoção da *smear layer* (KOKKAS *et al.*, 2004), pela técnica de obturação (DE DEUS *et al.*, 2004) e pelas propriedades dos cimentos (VITTI *et al.*, 2013).

Até o presente momento, nenhuma material, associação, ou técnica de obturação que se apresenta capaz de promover um selamento tridimensional e hermético do SCR (SIQUEIRA *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2017). As técnicas de obturação podem apresentar a formação de bolhas/falhas no material obturador culminando em um preenchimento incompleto, independente do cimento utilizado (GUIMARÃES *et al.*, 2014; SCHÄFER *et al.*, 2016; VIAPIANA *et al.*, 2016; WIESSE *et al.*, 2018).

Os cimentos endodônticos comumente utilizados na Endodontia têm como base o óxido de zinco ou resinas, podendo ou não conter hidróxido de cálcio. Eles apresentam uma vasta tradição na pesquisa científica e de emprego clínico (JITARU *et al.*, 2016). No entanto, a Endodontia está em constante transformação devido à inclusão de inovações técnicas e do progresso tecnológico. O avanço dos materiais endodônticos contribui significativamente para o crescimento exponencial da Endodontia (RAGHAVENDRA *et al.*, 2017).

O cimento AH Plus (Dentsply/DeTrey GmbH, Konstanz, Alemanha), de base resinosa (epóxi-amina), tem sido considerado o padrão-ouro por suas propriedades físico-químicas (VERSIANI *et al.*, 2006; NAGAS; ALTUNDASAR; SERPER., 2009;

RESENDE *et al.*, 2009; DE DEUS *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2017) e biológicas (SILVEIRA *et al.*, 2011, BORGES *et al.*, 2019). No entanto, a principal limitação do AH Plus é a ausência de propriedades bioativas que favoreçam o processo de cicatrização periapical (GIACOMINO *et al.*, 2019).

No contexto atual, surgiram as biocerâmicas, materiais cerâmicos biocompatíveis ou óxidos metálicos com grande capacidade de vedação, atividade antibacteriana e antifúngica e de estímulo à regeneração de tecidos naturais, aplicados na Medicina e Odontologia (SAGSEN *et al.*, 2011; CANDEIRO *et al.*, 2012; JAFARI; JAFARI, 2017). Eles incluem alumina e zircônia, vidro bioativo, cerâmica vítrea, silicato de cálcio, hidroxiapatita e fosfato de cálcio reabsorvível (JAIN; RANJAN, 2015). Neste contexto, novos cimentos endodônticos à base de silicato de cálcio foram desenvolvidos com excelentes propriedades biológicas (LEE *et al.*, 2019) e potencial bioativo (GIACOMINO *et al.*, 2019).

Os cimentos pré-misturados à base de silicato de cálcio ou biocerâmicos apresentam biocompatibilidade, bioatividade e radiopacidade em conformidade com a norma ISO 6876:2012 (ZORDAN-BRONZEL *et al.*, 2019), normativa vigente no campo dos materiais obturadores. Estes cimentos apresentam como característica marcante o alto pH, além da liberação de íons Ca^{2+} abundantemente (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Neste segmento, o cimento EndoSequence BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA, EUA) é um dos que apresenta maior visibilidade. Cimento biocerâmico pré-manipulado, de coloração branca e que possui em sua composição óxido de zircônio, silicato de cálcio, fosfato de cálcio monobásico, hidróxido de cálcio e agentes espessantes (HESS *et al.*, 2011; DELONG; HE; WOODMANSEY, 2015). É descrito pelo fabricante como um material insolúvel, radiopaco e livre de alumínio, que requer a presença de água para reação de presa (ZHANG; LI; PENG, 2010). Além disso, apresenta pH alcalino, atividade antibacteriana, radiopacidade e biocompatibilidade (CANDEIRO *et al.*, 2012). Sua capacidade de selamento apical (ZHANG; LI; PENG, 2009) e a força de adesão foram avaliadas e apontadas como equivalentes às do AH Plus (ERSAHAN; AYDIN, 2010).

O Sealer Plus BC (MK Life, Porto Alegre, RS, Brasil) é um cimento biocerâmico apresentado pronto para uso em uma bisnaga, tendo como base o dissilicato e trissilicato de cálcio nanoparticulados (MK LIFE, 2020). Assim como os demais biocerâmicos, apresenta biocompatibilidade (BENETTI *et al.*, 2019) e requer a presença de umidade para a reação de presa (MENDES *et al.*, 2018). O respectivo cimento exibiu excelentes

propriedades físico-químicas em relação ao pH, liberação de íons cálcio, radiopacidade e tempo de presa. No entanto, mostrou maior solubilidade do que a recomendada pela ISO 6876:2012 (MENDES *et al.*, 2018; TORRES *et al.*, 2019).

Por sua vez, o Bio-C Sealer (Angelus Industria de Produtos Odontológicos, Londrina, PR, Brasil) é um cimento endodôntico biocerâmico injetável, pronto para uso, recomendado para obturação de canais radiculares de dentes permanentes e tratamento de reabsorções internas (ANGELUS, 2020). Apresenta como características elevada fluidez, alta radiopacidade e pH elevado (ZORDAN-BRONZEL *et al.*, 2019), conferindo ação antibacteriana e bioatividade com a liberação de íons cálcio, promovendo biomineralização (LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2019), bom vedamento do conduto originado pela reação de presa que ocorre pelo contato com a umidade remanescente dos túbulos dentinários (ANGELUS, 2020).

No campo das avaliações dos materiais, diferentes técnicas microscópicas podem ser utilizadas para investigar a penetração dos cimentos no interior dos túbulos dentinários. A Microscopia de Varredura Confocal à Laser (MCONF) apresenta a capacidade de avaliar a interface adesiva, as características topográficas, além da mensuração da profundidade de penetração nos túbulos dentinários (ORDINOLA-ZAPATA *et al.*, 2009). A MCONF não necessita realizar alterações nas amostras e permite a visualização das seções ópticas abaixo da superfície da dentina sem a remoção da camada de esfregaço. Este aspecto torna-se relevante uma vez que o cálcio liberado nos cimentos à base de silicato de cálcio na superfície da amostra pode ser perdido durante a remoção da camada de esfregaço (JEONG *et al.*, 2017).

Para tal, a Rodamina-B tem sido o marcador mais amplamente empregado na literatura, quando da utilização da MCONF, para determinar a profundidade de penetração nos túbulos dentinários de cimentos endodônticos, além da adaptação e a qualidade da obturação do canal radicular (CHANDRA; SHANKAR; INDIRA, 2012; GUIMARÃES *et al.*, 2014). No entanto, para rastrear íons de cálcio sob MCONF, o Fluo-3 é o corante fluorescente mais apropriado por aumentar a intensidade da fluorescência em mais de 100 vezes na presença de íons cálcio (PAREDES *et al.*, 2008). O Fluo-3 foi utilizado principalmente para detectar gradientes de íons cálcio intracelular por MCONF ou citometria de fluxo. Com sua propriedade exclusiva de gerar luz em resposta para a faixa de onda específica do laser de argônio (488 nm), o Fluo-3 pode ser usado para detectar a presença de cimentos à base de silicato de cálcio sob MCONF pelo cálcio

dissociado presente na umidade nos canais radiculares e túbulos dentinários (JEONG *et al.*, 2017).

Entretanto, apesar da importância dos achados microscópicos, os mesmos tornam-se verdadeiramente relevantes quando apresentam compatibilidade com resultados de aplicação, sendo desta forma validados. Neste sentido, a resistência de união à dentina frente ao deslocamento por forças como pressão ou condensação surge como ponto relevante. Diferentes métodos são usados para avaliar a adesão de materiais dentários à dentina, incluindo teste de *push-out*, de resistência à tração e cisalhamento (EREN; AKSEL; SERPER, 2016). O método de *push-out* tem sido amplamente utilizado por obter resultados confiáveis e reproduzíveis (GUNESER; AKBULUT; ELDENIZ, 2013; TOPÇUOĞLU *et al.*, 2014; CARMO *et al.*, 2018). Os materiais de preenchimento das raízes devem ser capazes de resistir às forças de deslocamento axial durante a função dentária, juntamente com a pressão exercida pelos fluidos perirradiculares. Logo, o *push-out* é importante por simular as condições clínicas dos materiais obturadores (REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2010).

Paralelamente ao desenvolvimento de novos materiais, novos protocolos clínicos para a realização dos procedimentos endodônticos têm surgido. O emprego do ultrassom foi primeiramente introduzido na Endodontia por Richman, em 1957, sendo utilizado atualmente em várias etapas do tratamento endodôntico, desde o acesso até a cirurgia parendodôntica (PLOTINO *et al.*, 2007). A utilização de insertos ultrassônicos que atuam em alta frequência, 25 a 30 kHz, pode promover efeitos de transmissão acústica e o fenômeno de cavitação, notadamente em líquidos e/ou substâncias viscosas (VAN DER SLUIS *et al.*, 2007; GU *et al.*, 2009; WISEMAN *et al.*, 2011; JIANG *et al.*, 2012). A agitação ultrassônica (AUS) de cimentos obturadores endodônticos pode promover um aumento na adaptação interfacial entre o cimento e as paredes do canal (GUIMARÃES *et al.*, 2014), na penetração do cimento em canais laterais simulados (ARSLAN; ABBAS; KARATAS, 2016) e na resistência de união pelo teste de *push-out* (WIESSE *et al.*, 2018).

Em função do exposto, considerando os estudos que demonstraram a influência positiva da agitação ultrassônica nos resultados oferecidos pelos cimentos obturadores endodônticos e a atenção dada pela comunidade científica e pelos endodontistas aos materiais biocerâmicos, notadamente por sua biocompatibilidade e praticidade, faz-se premente a realização do referido estudo que pretende avaliar a influência da agitação ultrassônica nos cimentos obturadores biocerâmicos em relação a penetração intratubular e resistência de união à dentina radicular.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da agitação ultrassônica na penetração intratubular e na resistência de união à dentina radicular de cimentos obturadores endodônticos biocerâmicos.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar, por meio da Microscopia de Varredura Confocal à Laser, a influência da agitação ultrassônica na profundidade de penetração nos túbulos alcançada pelos cimentos obturadores biocerâmicos EndoSequence BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA, EUA), Sealer Plus BC (MK Life Dental and Medical Products, Porto Alegre, RS, Brasil) e Bio-C Sealer (Angelus Industria de Produtos Odontológicos, Londrina, PR, Brasil), comparando-os a do AH Plus.

- Avaliar, por meio do teste de *push-out*, a influência da agitação ultrassônica na resistência de união à dentina radicular dos cimentos biocerâmicos acima elencados, comparando-as a do AH Plus.

- Avaliar, em microscopia óptica, os tipos de falhas ocasionadas com a utilização dos cimentos obturadores biocerâmicos previamente elencados, comparando-os a do AH Plus.

3. HIPÓTESE

3.1 Hipótese Nula

Será considerada como hipótese nula que a agitação ultrassônica dos cimentos EndoSequence BC Sealer, Sealer Plus BC e Bio-C Sealer não influenciará na penetração intratubular ou na resistência de união à dentina radicular quando comparados com o grupo sem agitação; ainda, que os cimentos utilizados não apresentarão diferença entre si ou quando comparados ao AH Plus.

4 CAPÍTULO

A presente dissertação está de acordo com o Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para trabalhos de conclusão de Mestrado e Doutorado, por meio de artigo científico de autoria ou coautoria do candidato de acordo com as normas estabelecidas pela revista científica selecionada.

O trabalho foi previamente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, obedecendo aos ditames da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, aprovado sob o nº CAAE 00673218.2.0000.5054 e sob parecer nº 3.212.738 (Anexo 1).

4.1 Capítulo 1

“Efeito da agitação ultrassônica na penetração intratubular e resistência de união de cimentos obturadores a base de silicato de cálcio”, com título sugerido em inglês: “Ultrasonic agitation of calcium silicate-based root canal sealers on dentinal tubule penetration and push-out bond strength”.

O artigo segue as normas de publicação do periódico *International Endodontic Journal*, ISSN 0143-2885 (Anexo 2).

Página de Título

Efeito da Agitação Ultrassônica na Penetração Intratubular e na Resistência de União de Cimentos Obturadores à Base de Silicato de Cálcio

Verydianna Frota Carneiro DDS¹, Bruno Carvalho de Vasconcelos DDS, MSc, PhD^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Odontologia, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

² Curso de Odontologia de Sobral, Universidade Federal do Ceará, *Campus Sobral*, Sobral, CE, Brasil.

Palavras-chaves: Endodontia, Obturação do canal radicular, Cimentos biocerâmicos, Agitação ultrassônica, Microscopia de Varredura Confocal à Laser, Push-out.

Título reduzido: Agitação ultrassônica de cimentos obturadores a base de silicato de cálcio

Autor de correspondência:

Bruno Carvalho de Vasconcelos, DDS, MSc, PhD

Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará

Rua Monsenhor Furtado, 1273, Rodolfo Teófilo,

CEP: 60430-355, Fortaleza, CE, Brasil

Email: bcv@ufc.br

Agradecimentos:

Ao Centro Integrado de Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP) por viabilizar as análises em Microscopia de Varredura Confocal à Laser. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES). Os autores negam quaisquer conflitos de interesse relacionados a este estudo.

Efeito da Agitação Ultrassônica na Penetração Intratubular e Resistência de União de Cimentos Obturadores à Base de Silicato de Cálcio

RESUMO

Objetivo Avaliar a influência da agitação ultrassônica na penetração intratubular e na resistência de união à dentina radicular proporcionada por três cimentos obturadores endodônticos biocerâmicos.

Metodologia Noventa e seis canais de raízes distovestibulares de molares superiores foram instrumentadas com Reciproc R50 sob irrigação com NaOCl a 2,5%. Previamente a obturação os dentes foram randomicamente divididos em 8 grupos experimentais em função do cimento/tratamento a ser empregado ($n = 12$): EndoSequence BC Sealer (ESBC), Sealer Plus BC (SPBC), Bio-C Sealer (BCS), empregando o AH Plus (AH) como grupo controle e empregando-se ou não a agitação ultrassônica (AUS). Como forma de viabilizar a Microscopia de Varredura Confocal à Laser (MCONF) foi incorporado 0,1% do fluoróforo Fluo-3 aos cimentos. Nos grupos submetidos a AUS, a mesma foi empregada em 2 ciclos de 20 segundos na potência de 30%. Decorridos 7 dias, os espécimes foram seccionados transversalmente a 2, 4 e 6 mm do ápice anatômico e as secções levadas ao MCONF para determinação da profundidade de penetração dos cimentos nos túbulos dentinários (mm). Em seguida, os espécimes foram submetidos ao teste *push-out* para avaliação de resistência de união à dentina e o tipo de falha.

Resultados Os maiores valores de penetração foram oferecidos pelos grupos AH/AUS (0,69 mm), AH/AUS (0,61 mm) e ESBC (0,41 mm) a 6,0, 4,0 e 2,0 mm, respectivamente. No teste de *push-out* os melhores resultados foram oferecidos pelos grupos BCS/AUS (1,62 MPa), AH/AUS (1,95 MPa) e AH/AUS (2,1 MPa) a 6,0, 4,0 e 2,0 mm, respectivamente. A AUS incrementou a resistência de união significativamente nos grupos SPBC a 2,0 mm e BCS a 6,0 mm ($p < 0,05$).

Conclusão Nas condições do estudo pode-se concluir que a agitação ultrassônica não influenciou na penetração intratubular, mas aumentou significativamente os parâmetros da resistência de união nos grupos BCS, no nível mais cervical, e SPBC, no nível mais apical; ainda, que os cimentos biocerâmicos testados apresentaram padrão de penetração intratubular e de resistência de união muito parecidos entre si e com o AH Plus.

Palavras-chave: Endodontia. Obturação do canal radicular. Ultrassom. Microscopia Confocal.

INTRODUÇÃO

O objetivo principal da obturação do sistema de canais radiculares (SCR) é bloquear as vias de infiltração nas direções coronal e apical e, assim, sepultar bactérias remanescentes ao preparo químico-mecânico (Gharib *et al.* 2007, Mamootil & Messer 2007). Por este ponto de vista, o resultado bem-sucedido do tratamento endodôntico seria muito influenciado pela vedação adequada proporcionada pelos materiais de obturação no SCR (Lee *et al.* 2019).

Os cimentos obturadores endodônticos apresentam um importante papel no preenchimento das complexidades anatômicas, aderindo às irregularidades do canal radicular e penetrando nos túbulos dentinários, exercendo as funções de preenchimento tridimensional do SCR e aprisionamento das bactérias remanescentes, distanciando-as das fontes de nutrição (Silva *et al.* 2015, Uzunoglu-Özyürek *et al.* 2018, Vertuan *et al.* 2018). O cimento AH Plus (Dentsply/DeTrey GmbH, Konstanz, Alemanha), de base resinosa (epóxi-amina), tem sido considerado o padrão-ouro por suas propriedades físico-químicas (Versiani *et al.* 2006, Nagas *et al.* 2009, Resende *et al.* 2009, De Deus *et al.* 2012; Almeida *et al.* 2017), somadas a boa tolerância tecidual (Silveira *et al.* 2011, Borges *et al.* 2019). Entretanto, em um contexto mais atual, surgiram cimentos endodônticos à base de silicato de cálcio, biocerâmicos desenvolvidos com a intenção de apresentar excelentes propriedades biológicas (Lee *et al.* 2019) e potencial bioativo (Giacomino *et al.* 2019).

Estes materiais são representantes de um novo grupo de cimentos obturadores, disponibilizados em forma de apresentação que dispensa manipulação, tendo sua reação de presa dependente da umidade existente no substrato dentinário (Xuereb *et al.* 2015). Estudos têm apontado bons resultados biológicos (Candeiro *et al.* 2012, Benetti *et al.* 2019, López-García *et al.* 2019), todavia, alguns questionamentos quanto às suas propriedades físico-químicas vêm sendo suscitados (Torres *et al.* 2019). No que se refere a interação destes materiais com os tecidos dentários, os mesmos, por terem como base óxidos de cálcio, devem apresentar, em teoria, boa interação com o tecido dentário; todavia, este fato ainda carece de maiores comprovações e observações quanto a influência de diferentes protocolos de emprego.

Paralelamente ao desenvolvimento dos materiais, a introdução de novas tecnologias ou protocolos tem alterado o modo de se realizar o tratamento endodôntico. Neste sentido, o emprego do ultrassom tem se estendido desde o acesso até a cirurgia parentodôntica (Plotino *et al.* 2007). A agitação ultrassônica (AUS) de cimentos

obturadores endodônticos pode promover um aumento na adaptação interfacial entre o cimento e as paredes do canal (Guimarães *et al.* 2014), na penetração do cimento em canais laterais simulados e istmos (Arslan *et al.* 2016, Alcalde *et al.* 2017) e na resistência de união pelo teste de *push-out* (Wiesse *et al.* 2018).

Em função do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da agitação ultrassônica na penetração intratubular e na resistência de união à dentina radicular dos cimentos obturadores endodônticos biocerâmicos EndoSequence BC Sealer, Sealer Plus BC e Bio-C Sealer, comparando-os ao cimento AH Plus.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção e preparo dos espécimes

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Local (Protocolo #3.212.738), noventa e seis raízes distovestibulares de molares superiores, recém extraídos e armazenados em solução de timol a 0,1% foram incluídas no estudo. As mesmas não poderiam apresentar reabsorções, raízes com curvaturas acentuadas ($> 20^\circ$), ápices incompletos, sem patência ou múltiplos canais. Foram excluídas raízes fraturadas ou com forames apicais maiores que 250 μm ; no caso de exclusões as raízes foram repostas.

Após a devida descontaminação, os dentes foram decoronados com disco diamantado dupla-face (Metalúrgica Fava Indústria Comércio Ltda., São Paulo, SP, Brasil) acionado em baixa rotação sob irrigação com água; tal secção foi realizada abaixo da junção cimento-esmalte. Sob irrigação com solução hipoclorito de sódio à 2,5% (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul, SP, Brasil) foi executada a exploração dos canais distovestibulares com limas tipo-K #10 (Dentsply/Sirona, Ballaigues, Suíça). O comprimento de trabalho para o preparo foi estabelecido 1,0 mm aquém do comprimento real dos canais determinado pela inserção de uma lima tipo-K #15 (Dentsply/Sirona, Ballaigues, Suíça) até a visualização de sua ponta através do forame apical.

Previamente à instrumentação, todos os espécimes foram irrigados com 2,0 mL de hipoclorito de sódio à 2,5%, carregados em seringas descartáveis hipodérmicas de 10 mL (INJEX Indústrias Cirúrgicas Ltda., Ourinhos, SP, Brasil) munidas de agulhas Navitip 30G (Ultradent, Indaiatuba, SP, Brasil). O preparo químico-mecânico dos terços cervical, médio e apical foi efetuado por um único operador, empregando a técnica coroa-ápice com instrumentos R50 do sistema Reciproc (VDW GmbH, Munique, Alemanha), acionados em motor elétrico (VDW Silver; VDW GmbH) na programação “Reciproc

All". Os procedimentos de instrumentação foram realizados por meio de ciclos de três bicadas, com movimentos lentos de avanço e recuo. Entre cada ciclo foi realizada nova irrigação com 2,0 mL de hipoclorito de sódio a 2,5%, limpeza das espiras dos instrumentos com gaze e recapitulação do comprimento real do dente com lima tipo-K #15. Após a instrumentação, foi realizada a prova dos cones de guta-percha; foram empregados cones do mesmo sistema de tamanho compatível com o preparo (VDW GmbH, Munique, Alemanha).

Como protocolo de limpeza final, os canais foram inundados com 5,0 mL de NaOCl à 2,5%, seguido de EDTA à 17%, e NaOCl à 1,0%, utilizando irrigação ultrassônica passiva em cada solução, com a técnica de fluxo intermitente; este procedimento foi repetido por três vezes durante 20 segundos, utilizando um aparelho de ultrassom piezoelétrico (Piezon Master 200; EMS, Nyon, Geneva, Suíça) programado para potência 03 (aproximadamente 30%), munido de inserto ultrassônico apropriado (Irrisonic; Helse Ultrasonics, Santa Rosa do Viterbo, SP, Brasil). A última irrigação dos canais foi realizada com 5,0 mL de soro fisiológico (Eurofarma Laboratórios SA, São Paulo, SP, Brasil).

Após a seleção dos cones, os espécimes foram aleatoriamente divididos em 8 grupos experimentais ($n=12$), de acordo com o cimento a ser utilizado - EndoSequence BC Sealer (ESBC), Sealer Plus BC (SPBC), Bio-C Sealer (BCS) ou AH Plus (AH) - e do emprego ou não da agitação ultrassônica (AUS).

A secagem dos condutos foi realizada com cânula endodôntica de aspiração calibre 40 x 10 mm (Indusbello, Londrina, PR, Brasil) por 5 segundos e uma ponta de papel absorvente Reciproc R50 (VDW GmbH, Munique, Alemanha) nos grupos que irão utilizar os cimentos biocerâmicos. Nos grupos do cimento AH Plus, foram utilizados a cânula endodôntica de aspiração calibre 40 x 10 mm (Indusbello, Londrina, PR, Brasil) durante 5 segundos e pontas de papel absorvente Reciproc R50 (VDW GmbH, Munique, Alemanha) até observar a secagem completa do conduto.

Incorporação do corante e agitação dos cimentos

Em função da necessidade da presença de um marcador fluorescente para análise em MCONF, foi adicionado aos cimentos 0,1% do corante Sal Pentamônio Fluo-3 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) para avaliação da penetração intratubular dos cimentos.

No caso do AH Plus, antes da inserção nos condutos, o cimento foi previamente manipulado de acordo com a instrução do fabricante. Em seguida, os cimentos foram inseridos nos canais utilizando espirais Lentulo #40 (Dentsply-Maillefer), mantendo o instrumento 1,0 mm aquém do comprimento do trabalho, com observação do preenchimento total dos condutos.

Após o preenchimento completo dos condutos com os cimentos, naqueles dentes alocados para receber a AUS, a mesma foi realizada com o inserto ultrassônico Irrisonic (Helse Ultrasonics, Santa Rosa do Viterbo, SP, Brasil), calibrado com potência de 30%. Considerando a oscilação linear do ultrassom, o inserto foi ativado por 20 segundos na direção vestibulo-lingual e outros 20 segundos na direção mésio-distal, a 2,0 mm aquém do comprimento de trabalho.

Obturação dos canais radiculares

Após a realização dos protocolos de agitação dos cimentos obturadores e já com os cones de guta-percha devidamente provados, um único operador, cego quanto a divisão entre os grupos experimentais, foi responsável pela inserção dos cones, corte dos excessos cervicais e a condensação vertical, sendo a mesma realizada 1,0 mm aquém da embocadura.

Concluída a obturação dos canais, o selamento cervical foi realizado com cimento de ionômero de vidro (FGM Produtos Odontológicos Ltda, Joinville, SC, Brasil) para, em seguida, os espécimes serem levados a estufa, permanecendo por 7 dias à 37°C, com umidade relativa de 100%.

Análise da penetração intratubular

Decorrido o período de armazenamento, os espécimes foram seccionados a 2, 4 e 6 mm a partir do ápice radicular, produzindo-se discos com espessura de aproximadamente 1,0 mm ($\pm 0,2$ mm). Para tal, empregou-se disco diamantado dupla face acionado em máquina de corte (Isomet; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), a uma velocidade constante de 200 rpm, sob irrigação contínua com água. Os discos de dentina produzidos foram polidos em máquina de politriz metalográfica (Arotec, Cotia, SP, Brasil), utilizando-se de lixas d'água com granulometria sequencial 600, 900 e 1200. Em seguida, as fatias de dentina foram submetidas a um banho ultrassônico por 5 min, lavadas com água destilada e deixadas para secagem natural. Por fim, cada espécime foi adaptado e fixado lâminas de vidro numeradas e identificadas.

A interface cimento/dentina foi analisada em MCONF (Leica DMI 4000 B; Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha), em modo de fluorescência, manuseada por um único operador, cego em relação aos grupos experimentais. As secções foram visualizadas 10 µm abaixo da superfície da amostra, com aumento de 10x. As imagens foram obtidas pela varredura de 10 secções de 1 µm e gravadas em uma resolução de 1024 x 1024 pixels, utilizando o programa Leica Application Suite (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha), e salvas em formato TIFF.

Para mensurar a profundidade de penetração dos cimentos endodônticos nos túbulos dentinários, as imagens foram avaliadas no programa Image J (National Institute of Health, Bethesda, EUA) por um operador experiente, cego quanto aos grupos experimentais. A escala oferecida pelas imagens de MCONF (100 µm) foi empregada na calibração do programa de medição, o que permitiu a obtenção dos dados em milímetros. Durante as mensurações, empregou-se o protocolo sugerido por Gharib *et al.* (2007), demarcando-se linhas verticais e horizontais, a fim de que as imagens tivessem quatro segmentos de tamanhos iguais. A parede do canal serviu como ponto de partida e a penetração dos cimentos nos túbulos dentinários foi medida em sua maior extensão em cada segmento. Uma vez obtidas essas medições, foram calculadas as médias de profundidade de penetração do cimento nos túbulos dentinários considerando cada um dos 4 segmentos; tais valores foram registrados para futuras comparações.

Resistência de união à dentina radicular (teste *push-out*)

Após a análise da penetração, os discos foram submetidos ao teste de *push-out* em Máquina de Ensaio Universal (Instron #3345; Instron, Springfield, IL, EUA), com célula de carga de 50 N e velocidade de 0,5 mm/min, operado por um pesquisador experiente e cego quanto aos grupos experimentais. Para isso, *punchs* de diferentes diâmetros, selecionados em função dos discos, foram posicionados na porção apical dos mesmos e no centro do material obturador; na região inferior, uma placa de aço com furo central de 3,0 mm de diâmetro foi adaptada para servir de suporte a amostra e permitir o deslocamento do material obturador.

A força máxima necessária para deslocar o material de preenchimento da raiz foi registrada em Newton (N) e convertida em MPa pela divisão da força em Newton (N) pela área lateral (SL) em mm² (MPa = N/SL). A fórmula da área lateral do tronco-cone invertido (SL) foi utilizada para calcular a área do material de preenchimento: $SL = \pi (R$

+ r) h, onde $\pi = 3,14$, R é o raio médio do canal na porção coronal em mm, r é o raio médio de o canal na porção apical em mm, e h é a altura/espessura do disco.

A espessura de cada fatia foi aferida com um paquímetro digital (Mitutoyo, Tóquio, Japão) e os diâmetros do material obturador na face superior e inferior de cada secção foram determinados com auxílio do microscópio óptico (Modelo M165C Microsystem; Leica, Wetzlar, Alemanha).

Após o deslocamento do material obturador, as fatias foram examinadas com o intuito de determinar o tipo de falha, empregando para tal um microscópio óptico (Modelo M165C Microsystem), com aumento de 40x. As falhas foram classificadas, de acordo com Al-Hiyasat & Alfirjani (2019), em: adesiva, quando o cimento se deslocou totalmente da dentina (superfície da dentina sem o cimento); coesiva, quando ocorreu ruptura dentro do material obturador (na interface cimento e guta-percha); ou mista, quando ocorreu uma combinação de falhas adesiva e coesiva (superfície da dentina parcialmente coberta pelo cimento).

Análise estatística

Os dados de ambas as análises, penetração nos túbulos dentinários e resistência de união à dentina, foram tabulados e testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, que apontou a natureza não-paramétrica dos dados para ambas as variáveis.

Em seguida, foram empregados os testes de Kruskal-Wallis e Dunn para comparações entre os materiais, com nível de significância de 5%. Para a avaliação da influência da agitação ultrassônica foi realizado o teste de Mann-Whitney entre os grupos que empregaram o mesmo cimento, mais uma vez considerando significância de 5%; em ambos os casos, os resultados foram expressos em medianas, valores mínimos e máximos. Quanto a avaliação da distribuição do tipo de falha utilizou-se o teste Qui-quadrado.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os resultados da penetração nos túbulos dentinários (mm) nos grupos, em função dos cimentos e do emprego ou não da agitação ultrassônica, considerando os três níveis avaliados. Observou-se que o emprego da AUS não proporcionou diferença estatisticamente significativa em nenhum dos materiais testados, independentemente do nível radicular avaliado ($p > 0,05$). Na comparação entre os diferentes cimentos, considerando um mesmo nível radicular e tratamento, observou-se

diferenças significantes apenas a 2,0 mm nas comparações entre o grupo ESBC frente ao BCS e AH, todos sem AUS ($p < 0,05$).

Os resultados da resistência de união à dentina em função dos cimentos e da agitação ultrassônica encontram-se descritos na Tabela 2. Quanto ao emprego da AUS, diferenças significantes na resistência de união foram observadas nos grupos BCS a 6,0 mm, e SPBC a 2,0 mm ($p < 0,05$). Considerando as comparações entre os materiais, em uma mesma condição de tratamento, diferenças significantes foram observadas a 2,0 mm nas comparações entre os grupos AH e ESBC, tanto com quanto sem AUS ($p < 0,05$). No que se refere ao perfil das falhas de união, considerando os diferentes materiais/tratamentos utilizados, não foi possível identificar um tipo de falha mais representativo, não sendo observadas diferenças significantes ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

O presente estudo procurou avaliar a penetração intratubular e a resistência de união à dentina radicular de três cimentos obturadores endodônticos à base de silicato de cálcio, comparando-os ao AH Plus, e ainda observar o efeito da agitação ultrassônica nestas propriedades. Até o presente não há na literatura informações disponíveis quanto a estas características dos novos materiais biocerâmicos, nem tampouco sobre a possível influência da agitação ultrassônica sobre qualquer material hidráulico empregado como obturador de canais.

Para mensurar a profundidade de penetração de cimentos obturadores endodônticos foi empregada a Microscopia de Varredura Confocal à Laser, método facilmente encontrado na literatura (Chandra *et al.* 2012, Silva *et al.* 2015, Chen *et al.* 2017, Uzunoglu-Özyürek *et al.* 2018), aplicado para avaliar esta característica clinicamente relevante para o preenchimento adequado do canal radicular, evitando a reinfecção do mesmo (Kokkas *et al.* 2004). O método apresenta como vantagem a capacidade de captar imagens em profundidade com secções finas, reduzindo artefatos, e com captação de imagens com contraste e definição, favorecendo a interpretação (Gharib *et al.* 2007; Ravichandra *et al.* 2014). Uma desvantagem da MCONF é o potencial do marcador se dissociar do substrato de interesse e apresentar-se com uma distribuição imprecisa (Patel *et al.* 2007). Por este motivo, sugere-se empregar um marcador fluorescente específico para o material e o substrato de interesse (Patel *et al.* 2007). A grande maioria dos estudos utiliza a Rodamina-B como marcador fluorescente, todavia, em função afinidade da mesma pela umidade e pela inexistência de interação com os

materiais endodônticos, o emprego do Fluo-3 como marcador foi sugerido (Jeong *et al.* 2017). O mesmo apresenta afinidade com os íons cálcio, elemento presente em grande quantidade nos cimentos à base de silicato de cálcio, o que pode favorecer resultados mais fidedignos (Jeong *et al.* 2017).

No que tange aos resultados da penetração intratubular, considerando a influência da AUS, estudos anteriores apontaram diferenças significantes (Guimarães *et al.* 2014, Wiese *et al.* 2018), todavia, na presente avaliação a mesma não foi observada. Tal variação pode ser atribuída a diferenças na natureza dos cimentos obturadores testados, tendo os estudos anteriores avaliado apenas materiais resinosos, e/ou empregado a Rodamina-B como marcador fluorescente. Jeong *et al.* (2017) investigaram a penetração do EndoSequence BC Sealer, empregando o Fluo-3, como fluoróforo, e obtiveram resultados semelhantes.

Já quando da comparação entre os diferentes cimentos, considerando um mesmo tratamento, foram observadas poucas diferenças significantes, sugerindo que os cimentos biocerâmicos SPBC e BCS apresentam interação com o substrato dentinário muito similar aos já testados ESBC e AH; aceitando-se o AH como padrão. Diferenças foram observadas no nível mais apical (2,0 mm), tendo o ESBC apresentado-se superior ao BCS e ao próprio AH. Tais diferenças têm sido atribuídas à composição química, fluidez, solubilidade e propriedades dimensionais de cada cimento (Zhou *et al.* 2013). Destas, a fluidez do EnsoSequence BC Sealer foi anteriormente testada, revelando-se superior à do AH Plus (Candeiro *et al.* 2012).

Quanto ao teste resistência de união, este é considerado um referencial de adesão para materiais obturadores (Lee *et al.* 2002), sendo amplamente utilizado como substituto de testes que avaliam a capacidade de vedação destes materiais (Pane *et al.* 2013). No que tange aos resultados, poucas diferenças significantes foram observadas. Mais uma vez, reforça-se a semelhança entre os materiais testados, validando seu emprego. Diferenças foram observadas na secção mais apical tendo o AH oferecido resultados superiores aos do ESBC, independente da utilização da AUS. O fato do ESBC ter oferecido resultados inferiores ao AH, distanciando-se um pouco de seus congêneres, pode estar relacionado a sensibilidade técnica quanto a umidade presente nesta porção mais apical. A impossibilidade de controle preciso desta umidade pode influenciar os resultados do EndoSequence por interferir no processo de hidratação, influenciando a resistência de união (Carvalho *et al.* 2017).

Quanto ao emprego da agitação ultrassônica, pôde-se observar que a mesma melhorou a resistência de união nos cimentos BCS, no nível mais cervical, e SPBC, no nível mais apical. Tal achado pode ser atribuído a melhor distribuição dos materiais na secção dos canais ou ao estímulo a uma melhor interação cimento/substrato. Em concordância com esses resultados, Wiese *et al.* (2018) observaram o aumento da resistência de união (*push-out*) associado a AUS de cimentos obturadores com base resinosa.

Com propriedades bioativas promissoras, os cimentos obturadores biocerâmicos, necessitam de mais investigações, principalmente, os recém-lançados Bio-C Sealer e Sealer Plus BC. As duas avaliações do estudo, penetração intratubular e resistência de união à dentina radicular apresentaram poucas diferenças significativas entre os cimentos investigados. Mesmo a AUS influenciando de forma significativa na resistência de união em apenas alguns grupos, deve-se destacar a importância dessa tecnologia em busca de melhores resultados na Endodontia.

CONCLUSÃO

Em função dos resultados, nas condições do estudo, pode-se concluir que a agitação ultrassônica não influenciou na penetração intratubular dos materiais, todavia, aumentou a resistência de união a dentina dos cimentos Bio-C Sealer, no nível mais cervical, e Sealer Plus BC, no nível mais apical; ainda, que os cimentos biocerâmicos testados apresentaram padrão de penetração intratubular e de resistência de união muito parecidos entre si e com o AH Plus.

REFERÊNCIAS

Alcalde, MP, Bramante CM, Vivian RR, Amorso-Silva PA, Andrade FBD, Duarte MAH. (2017) Intradental antimicrobial action and filling quality promoted by ultrasonic agitation of epoxy resin-based sealer in endodontic obturation. *Journal of Applied Oral Science* **25**, 641-649.

Al-Hiyasat AS, Alfirjani S (2019) The effect of obturation techniques on the push-out bond strength of a premixed bioceramic root canal sealer. *Journal of Dentistry* **89**, 103169.

Almeida LHS, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG (2017) Are premixed calcium silicate-based endodontic sealers comparable to conventional materials? A systematic review of in vitro studies. *Journal of Endodontics* **43**, 527-535.

Arslan H, Abbas A, Karatas E (2016) Influence of ultrasonic and sonic activation of epoxy-amine resin-based sealer on penetration of sealer into lateral canals. *Clinical Oral Investigations* **20**, 2161-2164.

Benetti F, Azevedo Queiroz ÍO, Oliveira PHCD *et al.* (2019) Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. *Brazilian Oral Research* **33**, e042.

Borges AH, Guedes OA, Pereira TM, Guapo-Pavarina R, Rosa WLDO (2019) Evaluation of Selective Physicochemical and Biological Properties of Different Root Canal Sealers. *Iranian Endodontic Journal* **14**, 126-132.

Candeiro GTM, 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**, 842-845.

Carvalho CN, Grazziotin-Soares R, Miranda-Candeiro GT *et al.* (2017) Micro push-out bond strength and bioactivity analysis of a bioceramic root canal sealer. *Iranian Endodontic Journal* **12**, 343-348.

Chandra SS, Shankar P, Indira R (2012) Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Journal of Endodontics* **38**, 1412-1416.

Chen H, Zhao X, Qiu Y, Xu D, Cui L, Buling WB (2017) The tubular penetration depth and adaption of four sealers: a scanning electron microscopic study. *BioMed Research International*, 1-8.

De Deus GA, Brandão MC, Leal F *et al.* (2012) Lack of correlation between sealer penetration into dentinal tubules and sealability in nonbonded root fillings. *International Endodontic Journal* **45**, 642-651.

Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG (2007) A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. *Journal of Endodontics* **33**, 957-961.

Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A (2019) Comparative biocompatibility and osteogenic potential of two bioceramic sealers. *Journal of Endodontics* **45**, 51-56.

Guimarães BM, Amoroso-Silva PA, Alcalde MP, Marciano MA, De Andrade FB, Duarte MAH (2014) Influence of ultrasonic activation of 4 root canal sealers on the filling quality. *Journal of Endodontics* **40**, 964-968.

Jeong JW, Degraft-Johnson A, Dorn SO, Di Fiori PM (2017) Dentinal tubule penetration of a calcium silicate-based root canal sealer with different obturation methods. *Journal of Endodontics* **43**, 633-637.

Kokkas AB, Boutsoukias A, Vassiliadis LP, Stavrianos CK (2004) The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *Journal of Endodontics* **30**, 100-102.

Lee BN, Hong JU, Kim SM *et al.* (2019) Anti-inflammatory and osteogenic effects of calcium silicate based root canal sealers. *Journal of Endodontics* **45**, 73-78.

Lee KW, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH (2002) Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *Journal of Endodontics* **28**, 684-8.

López-García S, Pecci-Lloret MR, Guerrero-Gironés J, Pecci-Lloret MP, Lozano A, Llena C *et al.* (2019) Comparative Cytocompatibility and Mineralization Potential of Bio-C Sealer and TotalFill BC Sealer. *Materials* **12**, 3087.

Mamootil K, Messer HH (2007) Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *International Endodontic Journal* **40**, 873-881.

Nagas E, Altundasar E, Serper A (2009) The effect of master point taper on bond strength and apical sealing ability of different root canal sealers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* **107**, e61-e64.

Pane ES, Palamara JE, Messer HH (2013) Critical evaluation of the push-out test for root canal filling materials. *Journal of Endodontics* **39**, 669-673.

Patel DV, Sherriff M, Ford TRP, Watson TF, Mannocci F (2007) The Penetration of RealSeal primer and Tubliseal into Root Canal Dentinal Tubules: a Confocal Microscopic Study. *International Endodontic Journal* **40**, 67-71.

Plotino G, Pameijer CH, Grande NM, Somma F (2007) Ultrasonics in endodontics: a review of the literature. *Journal of Endodontics* **33**, 81-95.

Ravichandra PV, Vemisetty H, Deepthi K *et al.* (2014) Comparative evaluation of marginal adaptation of biodentine and other commonly used root end filling materials-an in vitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic* **8**, 243-245.

Resende LM, Rached-Junior FJA, Versiani MA *et al.* (2009) A comparative study of physicochemical properties of AH Plus, Epiphany, and Epiphany SE root canal sealers. *International Endodontic Journal* **42**, 785-793.

Silva RV, Silveira FF, Horta MCR *et al.* (2015) Filling effectiveness and dentinal penetration of endodontic sealers: a stereo and confocal laser scanning microscopy study. *Brazilian Dental Journal* **26**, 541-546.

Silveira CMM, Pinto SCS, Zedebski RDAM, Santos FA, Pilatti GL (2011) Biocompatibility of four root canal sealers: a histopathological evaluation in rat subcutaneous connective tissue. *Brazilian Dental Journal* **22**, 21-27.

Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chávez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M (2019) Effect of immersion in distilled water or phosphate-

buffered saline on the solubility, volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. *International Endodontic Journal* **53**, 385-391.

Uzunoglu-Özyürek E, Erdoğan Ö, Türker SA (2018) Effect of calcium hydroxide dressing on the dentinal tubule penetration of 2 different root canal sealers: a confocal laser scanning microscopic study. *Journal of Endodontics* **44**, 1018-1023.

Versiani MA, Carvalho-Junior JR, Padilha MIAF, Lacey S, Pascon EA, Sousa-Neto MD (2006) A comparative study of physicochemical properties of AH Plus and Epiphany root canal sealants. *International Endodontic Journal* **39**, 464-471.

Vertuan GC, Duarte MAH, Moraes IG *et al.* (2018) Evaluation of physicochemical properties of a new root canal sealer. *Journal of Endodontics* **44**, 501-505.

Xuereb M, Vella P, Damidot D, Sammut CV, Camilleri J (2015) In situ assessment of the setting of tricalcium silicate-based sealers using a dentin pressure model. *Journal of Endodontic* **41**, 111-124.

Wiesse PEB, Silva-Sousa YT, Pereira RD *et al.* (2018) Effect of ultrasonic and sonic activation of root canal sealers on the push-out bond strength and interfacial adaptation to root canal dentine. *International Endodontic Journal* **51**, 102-111.

Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M (2013) Physical properties of 5 root canal sealers. *Journal of Endodontics* **39**, 1281-1286.

Agradecimentos

Ao Centro Integrado de Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP) por viabilizar as análises em microscopia de varredura confocal à Laser. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES). Os autores negam quaisquer conflitos de interesse relacionados a este estudo.

TABELAS

Tabela 1. Penetração dos cimentos obturadores nos túbulos dentinários (mm) em função dos materiais e da agitação ultrassônica considerando os três terços radiculares.

Nível radicular	Material								
		AH Plus		Bio-C		Sealer Plus BC		Endosseque BC Sealer	
		S/ AUS	AUS	S/ AUS	AUS	S/ AUS	AUS	S/ AUS	AUS
6,0 mm	Mediana	0,67	0,69	0,40	0,45	0,47	0,44	0,55	0,48
	Mínimo	0,00	0,42	0,06	0,26	0,05	0,15	0,05	0,00
	Máximo	1,00	1,00	0,83	0,69	0,90	0,70	1,10	0,76
4,0 mm	Mediana	0,59	0,61	0,17	0,30	0,28	0,38	0,50	0,35
	Mínimo	0,00	0,30	0,06	0,03	0,04	0,11	0,05	0,18
	Máximo	0,84	0,90	0,57	0,69	0,92	0,66	0,86	0,73
2,0 mm	Mediana	0,08 ^b	0,17	0,11 ^b	0,13	0,14 ^{ab}	0,21	0,41 ^a	0,33
	Mínimo	0,00	0,02	0,02	0,03	0,02	0,06	0,00	0,00
	Máximo	0,40	0,61	0,22	0,41	0,36	0,68	1,07	0,63

^{a,b} Letras minúsculas diferentes sobrescritas representam significância estatística entre os materiais considerando um mesmo tratamento de acordo com os testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($P < 0,05$).

Tabela 2. Resultado do teste *push-out* (MPa) em função dos cimentos obturadores e da agitação ultrassônica considerando os três terços radiculares.

Nível radicular	Material								
		AH Plus		Bio-C		Sealer Plus BC		Endosseque BC Sealer	
		S/ AUS	AUS	S/ AUS	AUS	S/ AUS	AUS	S/ AUS	AUS
6,0 mm	Mediana	0,61	1,04	0,72 ^B	1,62 ^A	1,42	1,38	1,16	1,32
	Mínimo	0,40	0,55	0,24	0,48	0,38	0,74	0,64	0,77
	Máximo	6,63	2,87	1,03	4,53	4,72	6,31	3,96	3,75
4,0 mm	Mediana	0,85	1,95	0,88	1,54	1,04	1,35	0,89	1,05
	Mínimo	0,39	0,58	0,33	0,33	0,30	0,65	0,35	0,51
	Máximo	4,82	7,43	1,98	2,74	4,11	4,06	2,89	2,25
2,0 mm	Mediana	1,71 ^a	2,10 ^a	0,67 ^{ab}	0,89 ^{ab}	1,11 ^{ab,B}	1,87 ^{ab,A}	0,82 ^b	0,78 ^b
	Mínimo	0,40	0,45	0,23	0,41	0,45	0,41	0,37	0,38
	Máximo	7,58	9,93	2,51	3,38	2,41	4,35	1,33	1,46

^{a,b} Letras minúsculas diferentes sobrescritas representam significância estatística entre os materiais considerando um mesmo tratamento de acordo com os testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($P < 0,05$).

^{A,B} Letras maiúsculas diferentes sobrescritas representam significância estatística em um mesmo material em função do tratamento de acordo com o teste Mann-Whitney ($P < 0,05$).

5. CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados encontrados pode-se concluir que:

- A agitação ultrassônica não influenciou na penetração intratubular mas, aumentou a resistência de união nos grupos dos cimentos Bio-C Sealer, no nível mais cervical, e Sealer Plus BC, no nível mais apical.

- Os cimentos biocerâmicos testados apresentaram padrão de penetração intratubular e de resistência de união muito parecidos entre si e com o AH Plus;

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.H.S.; MORAES, R.R.; MORGENTAL, R.D.; PAPPEN, F. Are premixed calcium silicate-based endodontic sealers comparable to conventional materials? A systematic review of in vitro studies. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 4, p. 527-535, 2017.

ANGELUS. **Bio- C Sealer**. Disponível em: <<http://www.angelus.ind.br/Bio-C-Sealer371.html>> Acesso em 01/01/2020.

ARSLAN, H.; ABBAS, A.; KARATAS, E. Influence of ultrasonic and sonic activation of epoxy-amine resin-based sealer on penetration of sealer into lateral canals. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, n. 8, p. 2161-2164, 2016.

BENETTI, F.; AZEVEDO QUEIROZ, Í.O.; OLIVEIRA, P.H.C.D.; CONTI, L.C.; AZUMA, M.M.; OLIVEIRA, S.H.P.D.; CINTRA, L.T.A. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. **Brazilian Oral Research**, v. 33, e042, 2019.

BORGES, A.H.; GUEDES, O.A.; PEREIRA, T.M.; GUAPO-PAVARINA, R.; ROSA, W.L.D.O. Evaluation of Selective Physicochemical and Biological Properties of Different Root Canal Sealers. **Iranian Endodontic Journal**, v. 14, n. 2, p. 126-132, 2019.

CAMARGO, E.J.; VIVAN, R.R.; BRAMANTE, C.M.; DUARTE, M.A.H.; GRAEFF, M.S.Z.; SILVA, P.A.A.; ZAPATA, R.O.; MORAES, I.G. The influence of calcium hydroxide on adaptation and root canal penetration in teeth filled with methacrylate based resin sealer. **Dental Press Endodontics**, v. 5, n. 3, p. 21-27, 2015.

CAMILLERI J. Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 1, p. 72-78, 2015.

CANDEIRO, G.T.M.; CORREIA, F.C.; DUARTE, M. A. H.; RIBEIRO-SIQUEIRA, D. C.; GAVINI, G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 6, p. 842-845, 2012.

CARMO, S.S.; NÉSPOLI, F.F.P.; BACHMANN, L.; MIRANDA, C.E.S.; CASTRO-RAUCCI, L.M. S.; OLIVEIRA, I.R.; RAUCCI-NETO, W. Influence of early mineral deposits of silicate- and aluminate-based cements on push-out bond strength to root dentine. **International Endodontic Journal**, v. 51, n. 1, p. 92-101, 2018.

CELIKTEK, B.; JACOBS, R.; VASCONCELOS, K.F.; HUANG, Y.; SHAHEEN, E.; NICOLIELO, L.F.P.; ORHAN, K. Comparative evaluation of cone beam CT and micro-CT on blooming artifacts in human teeth filled with bioceramic sealers. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 8, p. 3267-3273, 2019.

CHANDRA, S.S.; SHANKAR, P.; INDIRA, R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. **Journal of Endodontics**, v. 38, p.1412-1416, 2012.

- CHEN, H.; ZHAO, X.; QIU, Y.; XU, D.; CUI, L.; BULING, W.B. The tubular penetration depth and adaption of four sealers: a scanning electron microscopic study. **BioMed Research International**, p. 1-8, 2017.
- DE DEUS, G.A.; BRANDÃO M.C.; LEAL, F.; REIS, C.; SOUZA, E.M.; LUNA A.S.; PACIORNIK, S.; FIDEL, S. Lack of correlation between sealer penetration into dentinal tubules and sealability in nonbonded root fillings. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 7, p. 642-651, 2012.
- DE DEUS, G.A.; GURGEL-FILHO, E.D.; MANIGLIA-FERREIRA, C.; COULINHO-FILHO, T. The influence of filling technique on depth of tubule penetration by root canal sealer: a study using light microscopy and digital image processing. **Australian Endodontic Journal**, v. 30, n. 1, p. 23-28, 2004.
- DELONG, C.; HE, J.; WOODMANSEY, K.F. The effect of obturation technique on the push-out bond strength of calcium silicate sealers. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 3, p. 385-388, 2015.
- EREN, S.K.; AKSEL, H.; SERPER, A. Effect of placement technique on the push-out bond strength of calcium-silicate based cements. **Dental Materials Journal**, v.35, n.5, p. 742-747, 2016.
- ERSAHAN, S.; AYDIN, C. Dislocation resistance of iRoot SP, a calcium silicate-based sealer, from radicular dentine. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 12, p. 2000-2002, 2010.
- GHARIB, S.R.; TORDIK, P.A.; IMAMURA, G.M.; BAGINSKI, T.A.; GOODELL, G.G. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 8, p. 957-961, 2007.
- GIACOMINO, C.M.; WEALLEANS, J.A.; KUHN, N.; DIOGENES, A. Comparative biocompatibility and osteogenic potential of two bioceramic sealers. **Journal of Endodontics**, v. 45, n. 1, p. 51-56, 2019.
- GU, L.; KIM, J.R.; LING, J.; CHOI, K.K.; PASHLEY, D.H.; TAY, F.R. Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices. **Journal of Endodontics**, v. 35, n.6, p. 791-804, 2009.
- GUNESER, M.B.; AKBULUT, M.B.; ELDENIZ, A.U. Effect of various endodontic irrigants on the push-out bond strength of biodentine and conventional root perforation repair materials. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 3, p. 380-384, 2013.
- GUIMARÃES, B.M.; AMOROSO-SILVA, P.A.; ALCALDE, M.P.; MARCIANO, M.A.; DE ANDRADE, F.B.; DUARTE, M.A.H. Influence of ultrasonic activation of 4 root canal sealers on the filling quality. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 7, p. 964-968, 2014.
- HESS, D.; SOLOMON, E.; SPEARS, R.; HE, J. Retreatability of a bioceramic root canal sealing material. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 11, p. 1547-1549, 2011.

- JAFARI, F.; JAFARI, S. Composition and physicochemical properties of calcium silicate based sealers: a review article. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 9, n. 10, p. e1249, 2017.
- JAIN, P.; RANJAN, M. The rise of bioceramics in endodontics: A review. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 6, n. 1, p. 416-422, 2015.
- JEONG, J.W.; DEGRAFT-JOHNSON, A.; DORN, S.O.; DI FIORI, P.M. Dentinal tubule penetration of a calcium silicate-based root canal sealer with different obturation methods. **Journal of Endodontics**, v. 43, n.4, p. 633-637, 2017.
- JIANG, L.; LAK, B.; EIJSVOGELS, L.M.; WESSELINK, P.; VAN DER SLUIS, L.W. Comparison of the cleaning efficacy of different final irrigation techniques. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 6, p. 838-841, 2012.
- JITARU, S.; HODISAN, I.; TIMIS, L.; LUCIAN, A.; BUD, M. The use of bioceramics in endodontics-literature review. **Clujul Medical**, v. 89, n. 4, p. 470, 2016.
- KOKKAS, A.B.; BOUTSIUKIS, A.; VASSILIADIS, L.P.; STAVRIANOS, C.K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v. 30, n.2, p. 100-102, 2004.
- KUÇI, A.; ALAÇAM, T.; YAVAS, O.; ERGUL-ULGER, Z.M.; KAYAOGLU, G. Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer: a confocal laser scanning microscopic study. **Journal of Endodontics**, v. 40, n.10, p. 1627-1631, 2014.
- LEE, B.N.; HONG, J.U.; KIM, S.M.; JANG, J.H.; CHANG, H.S.; HWANG, Y.C.; HWANG, N.; OH, W.M. Anti-inflammatory and osteogenic effects of calcium silicate based root canal sealers. **Journal of Endodontics**, v. 45, n. 1, p. 73-78, 2019.
- LÓPEZ-GARCÍA, S.; PECCI-LLORET, M.R.; GUERRERO-GIRONÉS, J.; PECCI-LLORET, M.P.; LOZANO, A.; LLENA, C.; FORNER, L. Comparative Cytocompatibility and Mineralization Potential of Bio-C Sealer and TotalFill BC Sealer. **Materials**, v. 12, n. 19, p. 3087, 2019.
- MALMBERG, L.; BJÖRKNER, A.E.; BERGENHOLTZ, G. Establishment and maintenance of asepsis in endodontics—a review of the literature. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 74, n. 6, p. 431-435, 2016.
- MAMOOTIL, K.; MESSER, H.H. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. **International Endodontic Journal**, v. 40, n.11, p. 873-881, 2007.
- MENDES, A.T.; SILVA, P.B.; SÓ, B.B.; HASHIZUME, L.N.; VIVAN, R.R.; ROSA, R.A.; DUARTE, M.A.H.; SÓ, M.V.R. Evaluation of Physicochemical Properties of New Calcium Silicate-Based Sealer. **Brazilian Dental Journal**, v. 29, n. 6, p. 536-540, 2018.

MK LIFE. **Sealer Plus BC**. Disponível em:
<<http://www.mklife.com.br/Loja/Produtos/Detalhes.asp?Cod=1598>> Acesso em
01/01/2020.

NAGAS, E.; ALTUNDASAR, E.; SERPER, A. The effect of master point taper on bond strength and apical sealing ability of different root canal sealers. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 107, n. 1, p. e61-e64, 2009.

ORDINOLA-ZAPATA, R.; BRAMANTE, C.M.; GRAEFF, M.S.; DELCARPIOPEROCHENA, A.; VIVAN, R.R.; CAMARGO, E.J.; GARCIA, R.B.; BERNARDINELLI, N.; GUTMANN, J.L.; DE MORAES, I.G. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning microscopy study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 108, n. 3, p. 450-457, 2009.

PAREDES, R.M.; ETZLER, J.C.; WATTS, L.T.; ZHENG, W.; LECHLEITER, J.D. Chemical Calcium Indicators. **Methods**, v. 46, n.3, p.143–51, 2008.

PEREIRA, R.D.; BRITO-JÚNIOR, M.; LEONI, G.B.; ESTRELA, C.; DE SOUSA-NETO, M.D. Evaluation of bond strength in single-cone fillings of canals with different cross-sections. **International Endodontic Journal**, v.50, n.2, p. 177–183, 2017.

PLOTINO, G.; PAMEIJER, C.H.; GRANDE, N.M.; SOMMA, F. Ultrasonics in endodontics: a review of the literature. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 2, p. 81-95, 2007.

RAGHAVENDRA, S.S.; JADHAV, G.R.; GATHANI, K.M.; KOTADIA, P. Bioceramics in endodontics—a review. **Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry**, v. 51, n. 3, p. S128, 2017.

RESENDE, L.M.; RACHED-JUNIOR, F.J.A.; VERSIANI, M.A.; SOUZA-GABRIEL, A.E.; MIRANDA, C.E.S.; SILVA-SOUSA, Y.T.C.; SOUSA NETO, M.D. A comparative study of physicochemical properties of AH Plus, Epiphany, and Epiphany SE root canal sealers. **International Endodontic Journal**, v. 42, n. 9, p. 785-793, 2009.

REYES-CARMONA, J.F.; FELIPPE, M.S.; FELIPPE, W.T. A phosphate-buffered saline intracanal dressing improves the biomineralization ability of mineral trioxide aggregate apical plugs. **Journal of Endodontics**, v. 36, n.10, p. 1648-1652, 2010.

SAGSEN, B.; USTÜN, Y.; DEMIRBUGA, S.; PALA, K. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. **International Endodontic Journal**, v. 44, n. 12, p. 1088-1091, 2011.

SCHÄFER, E.; SCHRENKER, C.; ZUPANC, J.; BÜRKLEIN, S. Percentage of gutta-percha filled areas in canals obturated with cross-linked gutta-percha core-carrier systems, single-cone and lateral compaction technique. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 2, p. 294-298, 2016.

SILVA, R.V.; SILVEIRA, F.F.; HORTA, M.C.R.; DUARTE, M.A.H.; CAVENAGO, B.C.; MORAIS, I.G.; NUNES, E. Filling effectiveness and dentinal penetration of endodontic sealers: a stereo and confocal laser scanning microscopy study. **Brazilian Dental Journal**, v. 26, n. 5, p. 541-546, 2015.

SILVEIRA, C.M.M.; PINTO, S.C.S.; ZEDEBSKI, R.D.A.M.; SANTOS, F.A.; PILATTI, G.L. Biocompatibility of four root canal sealers: a histopathological evaluation in rat subcutaneous connective tissue. **Brazilian Dental Journal**, v. 22, n. 1, p. 21-27, 2011.

SIQUEIRA J.F.J; ROÇAS, I.N.; LOPES, H.P.; MOREIRA, E.J.L.; SOUZA, L.C. **Materiais obturadores**. In: LOPES, H. P.; SIQUEIRA J.F. Jr. Endodontia – Biologia e Técnica. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 613-639, 2010.

TOPÇUOĞLU, H.S.; ARSLAN, H.; AKÇAY, M.; SAYGIL, I.G.; ÇAKICI, F.; TOPÇUOĞLU, G. The effect of medicaments used in endodontic regeneration technique on the dislocation resistance of mineral trioxide aggregate to root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v.40, n. 12, p. 2041–2044, 2014.

TORRES, F.F.E.; ZORDAN-BRONZEL, C.L.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M.; CHÁVEZ-ANDRADE, G.M.; PINTO, J.C.; 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. **International Endodontic Journal**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/iej.13225>

UZUNOGLU-ÖZYÜREK, E.; ERDOĞAN, Ö.; TÜRKER, S.A. Effect of calcium hydroxide dressing on the dentinal tubule penetration of 2 different root canal sealers: a confocal laser scanning microscopic study. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 6, p. 1018-1023, 2018.

VAN DER SLUIS, L.W.M.; SHEMESH, H.; WU, M.K., WESSELINK, P.R. An evaluation of the influence of passive ultrasonic irrigation on the seal of root canal fillings. **International Endodontic Journal**, v. 40, n. 5, p. 356-361, 2007.

VERSIANI, M.A.; CARVALHO-JUNIOR, J.R.; PADILHA, M.I.A.F.; LACEY, S.; PASCON, E.A.; SOUSA-NETO, M.D. A comparative study of physicochemical properties of AH Plus and Epiphany root canal sealants. **International Endodontic Journal**, v. 39, n. 6, p. 464-471, 2006.

VERTUAN, G.C.; DUARTE, M.A.H.; MORAES, I.G.; PIAZZA, B.; VASCONCELOS, B.C.; ALCALDE, M.P.; VIVAN, R.R. Evaluation of physicochemical properties of a new root canal sealer. **Journal of Endodontics**, v. 44, n. 3, p. 501-505, 2018.

VIAPIANA, R.; MOINZADEH, A.T.; CAMILLERI, L.; WESSELINK, P.R.; 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. **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 8, p. 774-782, 2016.

VITTI, R.P.; PRATIB, C.; SILVA, E.J.N.; SINHORETI, M.A.C.; ZANCHIC, C.H.;

- SOUSASILVA, M.G. Physical properties of MTA Fillapex sealer. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 7, p. 915-918, 2013.
- WANG, Y.; LIU, S.; DONG, Y. In vitro study of dentinal tubule penetration and filling quality of bioceramic sealer. **PLoS ONE**, v.13, n. 2, p. e0192248, 2018.
- WIESSE, P.E.B.; SILVA-SOUSA, Y.T.; PEREIRA, R.D.; ESTRELA, C.; DOMINGUES, L.M.; PÉCORÁ, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Effect of ultrasonic and sonic activation of root canal sealers on the push-out bond strength and interfacial adaptation to root canal dentine. **International Endodontic Journal**, v. 51, n. 1, p. 102-111, 2018.
- WISEMAN, A.; COX, T.C.; PARANJPE, A.; FLAKE, N.M.; COHENCA, N.; JOHNSON, J.D. Efficacy of sonic and ultrasonic activation for removal of calcium hydroxide from mesial canals of mandibular molars: a microtomographic study. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 2, p. 235-238, 2011.
- ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 107, n. 6, p. e79-e82, 2009.
- ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. **International Endodontic Journal**, v. 43, n. 9, p. 769-774, 2010.
- ZORDAN-BRONZEL, C.L.; TORRES, F.F.E.; TANOMARU-FILHO, M.; CHÁVEZ-ANDRADE, G.M.; BOSSO-MARTELO, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J.M. Evaluation of Physicochemical Properties of a New Calcium Silicate-based Sealer, Bio-C Sealer. **Journal of Endodontics**, v. 45, n. 10, p. 1248-1252, 2019.

ANEXO 1

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA ATIVAÇÃO ULTRASSÔNICA NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO, PENETRAÇÃO INTRATUBULAR E ADAPTAÇÃO À DENTINA RADICULAR DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS

Pesquisador: VERYDIANNA FROTA CARNEIRO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 00673218.2.0000.5054

Instituição Proponente: Universidade Federal do Ceará/ PROPESQ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.212.738

Apresentação do Projeto:

O presente Projeto de Pesquisa tem por objetivo avaliar o efeito da ativação ultrassônica de três cimentos obturadores endodônticos à base de biocerâmicas na adaptação interfacial, penetração intratubular e resistência de união (teste de push-out) à dentina do canal radicular, comparando-os ao AH Plus. Noventa e seis dentes humanos unirradiculares serão preparados com instrumentos R50 sob irrigação com Hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5%. Irrigação final será realizada com NaOCl e EDTA a 17% sob ativação ultrassônica. Os dentes serão randomicamente divididos em 8 grupos experimentais em função do material/tratamento à ser empregado (n= 12): Bio-C Sealer, EndoSequence BC Sealer, Sealer Plus BC e AH Plus (controle); com ou sem ativação ultrassônica (AUS). Como forma de viabilizar o estudo em Microscopia Confocal (MCON) será incorporado 0,1% de Rodamina B aos cimentos. A obturação será realizada com gutapercha R50 associada aos cimentos. Nos grupos submetidos a AUS a mesma será empregada em 2 ciclos de 20 segundos à 30%. Serão realizadas análises de adaptação interfacial (lacunas e vazios) e penetração intratubular no MCON. Em seguida, os espécimes serão submetidos ao teste push-out em máquina de ensaio universal para avaliar a resistência de união do material obturador à dentina.

Objetivo da Pesquisa:

1.Objetivo Primário

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

CEP: 60.430-275

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 3.212.738

- Avaliar a influência da ativação ultrassônica na adaptação interfacial, na penetração intratubular e na resistência de união à dentina radicular de cimentos obturadores endodônticos biocerâmicos.

2. Objetivos Secundários:

- Avaliar, por meio do teste de push-out, a influência da ativação ultrassônica na resistência de união dos cimentos biocerâmicos BIO-C Sealer, Endosequence BC Sealer e Sealer Plus BC, comparando-as a do AH Plus.

- Observar, por meio da microscopia confocal à Laser (MCON), a influência da ativação ultrassônica na adaptação marginal dos materiais obturadores biocerâmicos previamente elencados comparando-as a do AH Plus;

- Determinar, por meio da MCON, a influência da ativação ultrassônica na profundidade de penetração nos túbulos alcançada pelos cimentos obturadores biocerâmicos previamente elencados comparando-os a do AH Plus.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A amostra será formada por dentes humanos previamente extraídos por motivos alheios a pesquisa, sem riscos ou prejuízos aos mesmos, segundo informação do pesquisador.

Risco também na manipulação de material biológico(dentes humanos).

Benefício: Em função da importância do selamento tridimensional do Sistema de Canais Radiculares no tratamento endodôntico, faz-se necessário avaliar a influência da ativação ultrassônica na resistência de união, penetração nos túbulos e melhor adaptação interfacial dos cimentos endodônticos biocerâmicos, novidade na Endodontia, submetidos ou não à ativação ultrassônica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A Pesquisa usará amostra de dentes humanos previamente extraídos do Centro de Especialidades Odontológica(CEO)-Centro.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram devidamente apresentados.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE **Município:** FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 3.212.738

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1225820.pdf	06/03/2019 08:38:19		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.pdf	06/03/2019 08:35:52	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	06/03/2019 08:35:15	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	02/10/2018 21:43:02	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Outros	FIEL_DEPOSITARIO.pdf	02/10/2018 21:41:21	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Outros	APRECIACAO.pdf	02/10/2018 21:40:36	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Outros	Currículo.pdf	02/10/2018 21:37:47	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO2.pdf	02/10/2018 21:36:57	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	02/10/2018 21:28:26	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_DE_CONCORDANCIA.pdf	02/10/2018 21:27:36	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	02/10/2018 21:12:08	VERYDIANNA FROTA CARNEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000
Bairro: Rodolfo Teófilo
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344

CEP: 60.430-275

E-mail: comepe@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 3.212.738

FORTALEZA, 21 de Março de 2019

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: comepe@ufc.br

ANEXO 2

INTERNATIONAL ENDODONTIC JOURNAL

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1 Format

Language: The language of publication is English. It is preferred that manuscript is professionally edited.

Presentation: Authors should pay special attention to the presentation of their research findings or clinical reports so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and clearly explained where its use is unavoidable. Abbreviations should also be kept to a minimum, particularly those that are not standard. The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Titles and abstracts especially should be written in language that will be readily intelligible to any scientist.

Article Preparation Support: **Wiley Editing Services** offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for **Preparing Your Article** for general guidance about writing and preparing your manuscript.

Abbreviations: International Endodontic Journal adheres to the conventions outlined in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors. When non-standard terms appearing 3 or more times in the manuscript are to be abbreviated, they should be written out completely in the text when first used with the abbreviation in parenthesis.

5.2. Structure

All manuscripts submitted to *International Endodontic Journal* should include Title Page, Abstract, Main Text, References and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate

Title Page: The title page should bear: (i) Title, which should be concise as well as descriptive; (ii) Initial(s) and last (family) name of each author; (iii) Name and address of department, hospital or institution to which work should be attributed; (iv) Running title (no more than 30 letters and spaces); (v) No more than six keywords (in alphabetical order); (vi) Name, full postal address, telephone, fax number and e-mail address of author responsible for correspondence.

Abstract for Original Scientific Articles should be no more than 350 words giving details of what was done using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the study and the main hypothesis tested, if any.
- **Methodology:** Describe the methods adopted including, as appropriate, the design of the study, the setting, entry requirements for subjects, use of materials, outcome measures and statistical tests.
- **Results:** Give the main results of the study, including the outcome of any statistical analysis.
- **Conclusions:** State the primary conclusions of the study and their implications. Suggest areas for further research, if appropriate.

Abstract for Systematic Review Articles should be no more than 350 words giving

details of what was done using the following structure where applicable:

- **Background:** Provide a brief introduction of the subject and why it is important.
- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the study and the main hypothesis tested, if any.
- **Data sources:** Describe the databases searched.
- **Study eligibility criteria, participants, and interventions:** Briefly describe the methods adopted including exclusion/inclusion criteria.
- **Study appraisal and synthesis methods:** Describe bias, study type and quality
- **Results:** Give the main results of the review, including the outcome of any statistical meta-analysis.
- **Limitations:** Highlight problems with the current review and research area
- **Conclusions and implications of key findings:** State the primary conclusions of the study and their implications. Suggest areas for further research, if appropriate.

Abstract for Review Articles (narrative)

The Abstract should be unstructured and no more than 350 words.

Abstract for Case Reports should be no more than 350 words using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the report and the clinical problem which is addressed.
- **Summary:** Describe the methods adopted including, as appropriate, the design of the study, the setting, entry requirements for subjects, use of materials, outcome measures and analysis if any.
- **Key learning points:** Provide up to 5 short, bullet-pointed statements to highlight the key messages of the report. All points must be fully justified by material presented in the report.

Abstract for Clinical Articles should be no more than 350 words using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the report and the clinical problem which is addressed.
- **Methodology:** Describe the methods adopted.
- **Results:** Give the main results of the study.
- **Conclusions:** State the primary conclusions of the study.

Main Text of Original Scientific Article should include Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion

Introduction: should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and gaps in knowledge. Exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation, or hypothesis to be tested.

Material and Methods: must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced.

(i) Clinical Trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A **CONSORT checklist** and flow diagram (as a Figure) should also be included in the submission material.

(ii) Experimental Subjects: experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association **Declaration of Helsinki** (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above

mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

(iii) Suppliers: Suppliers of materials should be named and their location (Company, town/city, state, country) included.

Results: should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations. Data should not be duplicated in Tables and Figures.

Discussion: may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The Discussion section should progress with a review of the methodology before discussing the results in light of previous work in the field. The Discussion should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

Conclusion: should contain a summary of the findings.

Main Text of Review Articles should be divided into Introduction, Review and Conclusions. The Introduction section should be focused to place the subject matter in context and to justify the need for the review. The Review section should be divided into logical sub-sections in order to improve readability and enhance understanding. Search strategies must be described and the use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. The use of tabulated and illustrative material is encouraged. The Conclusion section should reach clear conclusions and/or recommendations on the basis of the evidence presented.

Main Text of Clinical Reports and Clinical Articles should be divided into Introduction, Report, Discussion and Conclusion,. They should be well illustrated with clinical images, radiographs, diagrams and, where appropriate, supporting tables and graphs. However, all illustrations must be of the highest quality

Acknowledgements: *International Endodontic Journal* requires that all sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Grant or contribution numbers may be acknowledged, and principal grant holders should be listed. Acknowledgments should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. See also above under Ethical Guidelines.

5.3. References

It is the policy of the Journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep citations of reviews to the absolute minimum.

We recommend the use of a tool such as **EndNote** or **Reference Manager** for reference management and formatting. The EndNote reference style can be obtained upon request to the editorial office (ieeditor@cardiff.ac.uk). Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

In the text: single or double authors should be acknowledged together with the year of publication, e.g. (Pitt Ford & Roberts 1990). If more than two authors the first author followed by *et al.* is sufficient, e.g. (Tobias *et al.* 1991). If more than 1 paper is cited the references should be in year order and separated by ", " e.g. (Pitt Ford & Roberts 1990, Tobias *et al.* 1991).

Reference list: All references should be brought together at the end of the paper in alphabetical order and should be in the following form.

- (i) Names and initials of up to six authors. When there are seven or more, list the first three and add *et al.*
- (ii) Year of publication in parentheses
- (iii) Full title of paper followed by a full stop (.)
- (iv) Title of journal in full (in italics)
- (v) Volume number (bold) followed by a comma (,)
- (vi) First and last pages

Examples of correct forms of reference follow:

Standard journal article

Bergenholtz G, Nagaoka S, Jontell M (1991) Class II antigen-expressing cells in experimentally induced pulpitis. *International Endodontic Journal* **24**, 8-14.

Corporate author

British Endodontic Society (1983) Guidelines for root canal treatment. *International Endodontic Journal* **16**, 192-5.

Journal supplement

Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M (1979) Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood* **54** (Suppl. 1), 26a.

Books and other monographs

Personal author(s)

Gutmann J, Harrison JW (1991) *Surgical Endodontics*, 1st edn Boston, MA, USA: Blackwell Scientific Publications.

Chapter in a book

Wesselink P (1990) Conventional root-canal therapy III: root filling. In: Harty FJ, ed. *Endodontics in Clinical Practice*, 3rd edn; pp. 186-223. London, UK: Butterworth.

Published proceedings paper

DuPont B (1974) Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, eds. *Proceedings of the Third Annual Meeting of the International Society for Experimental Rematology*; pp. 44-46. Houston, TX, USA: International Society for Experimental Hematology.

Agency publication

Ranofsky AL (1978) *Surgical Operations in Short-Stay Hospitals: United States-1975*. DHEW publication no. (PHS) 78-1785 (Vital and Health Statistics; Series 13; no. 34.) Hyattsville, MD, USA: National Centre for Health Statistics.8

Dissertation or thesis

Saunders EM (1988) *In vitro and in vivo investigations into root-canal obturation using thermally softened gutta-percha techniques (PhD Thesis)*. Dundee, UK: University of Dundee.

URLs

Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and only the web address cited in the text.

Smith A (1999) Select committee report into social care in the community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report015285.html> [accessed on 7 November 2003]

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.

Figures: All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction, symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the smallest size at which essential details are visible.

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by a thin space (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

Figure legends: Figure legends should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods.

Permissions: If all or part of previously published illustrations are to be used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. This is the responsibility of the authors before submission.

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below).

EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley Blackwell's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

5.5. Supporting Information

Publication in electronic formats has created opportunities for adding details or whole sections in the electronic version only. Authors need to work closely with the editors in developing or using such new publication formats.

Supporting information, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted. It should be clearly stated at the time of submission that the supporting information is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the supporting information is such that it cannot be accommodated on the journal's website, the author agrees to make the supporting information available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's website. The author must advise Wiley Blackwell if the URL of the website where the supporting information is located changes. The content of the supporting information must not be altered after the paper has been accepted for publication.

The availability of supporting information should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting Information' and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the authors Web site cannot be reviewed. The supporting information is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

Preparation of Supporting Information: Although provision of content through the web in any format is straightforward, supporting information is best provided either in web-ready form or in a form that can be conveniently converted into one of the standard web publishing formats:

- Simple word-processing files (.doc or .rtf) for text.
- PDF for more complex, layout-dependent text or page-based material. Acrobat files can be distilled from Postscript by the Publisher, if necessary.
- GIF or JPEG for still graphics. Graphics supplied as EPS or TIFF are also acceptable.
- MPEG or AVI for moving graphics.

Subsequent requests for changes are generally unacceptable, as for printed papers. A charge may be levied for this service.

Video Imaging: For the on-line version of the Journal the submission of illustrative video is encouraged. Authors proposing the use such media should consult with the Editor during manuscript preparation.

Article Promotion Support

Wiley Editing Services offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1. Figures

Hard copies of all figures and tables are required when the manuscript is ready for publication. These will be requested by the Editor when required. Each Figure copy should be marked on the reverse with the figure number and the corresponding author's name.

6.2 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

6.3 Early Online Publication Prior to Print

International Endodontic Journal is covered by Wiley Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.4 Online Production Tracking

Online production tracking is available for your article through Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript.

Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

6.5 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Wiley Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.6 Offprints

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via Author Services

only. Please therefore sign up for Author Services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: **Sheridan Printer**. If you have queries about offprints please email **Customer Service**.

The corresponding author will be sent complimentary copies of the issue in which the paper is published (one copy per author).

6.7 Author Services

For more substantial information on the services provided for authors, please see **Wiley Blackwell Author Services**

6.8 Note to NIH Grantees: Pursuant to NIH mandate, Wiley Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see **www.wiley.com/go/nihmandate**

7. Guidelines for reporting of DNA microarray data

The *International Endodontic Journal* gives authors notice that, with effect from 1st January 2011, submission to the *International Endodontic Journal* requires the reporting of microarray data to conform to the MIAME guidelines. After this date, submissions will be assessed according to MIAME standards. The complete current guidelines are available at **http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame_2.0.html**. Also, manuscripts will be published only after the complete data has been submitted into the public repositories, such as GEO (**http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/**) or ArrayExpress (**http://www.ebi.ac.uk/microarray/submissions/overview.html**), in MIAME compliant format, with the data accession number (the identification number of the data set in the database) quoted in the manuscript. Both databases are committed to keeping the data private until the associated manuscript is published, if requested.

Prospective authors are also encouraged to search for previously published microarray data with relevance to their own data, and to report whether such data exists. Furthermore, they are encouraged to use the previously published data for qualitative and/or quantitative comparison with their own data, whenever suitable. To fully acknowledge the original work, an appropriate reference should be given not only to the database in question, but also to the original article in which the data was first published. This open approach will increase the availability and use of these large-scale data sets and improve the reporting and interpretation of the findings, and in increasing the comprehensive understanding of the physiology and pathology of endodontically related tissues and diseases, result eventually in better patient care.