



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**HEITOR MURILLO CARNIO**

**Avaliação das propriedades físico-químicas de um cimento  
experimental à base de silicato de cálcio com biopolímero de  
quitosana**

Piracicaba

2022

**HEITOR MURILLO CARNIO**

**Avaliação das propriedades físico-químicas de um cimento experimental à base de silicato de cálcio com biopolímero de quitosana**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Marina Angélica Marciano da Silva

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELO HEITOR MURILLO CARNIO

Piracicaba

2022

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba  
Marilene Girello - CRB 8/6159

C217a Camio, Heitor Murillo, 1997-  
Avaliação das propriedades físico-químicas de um cimento experimental à base de silicato de cálcio com biopolímero de quitosana / Heitor Murillo Camio. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Marina Angélica Marciano da Silva.  
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Calcarea silicata. 2. Cimentos dentários. 3. Quitosana. I. Marciano, Marina Angélica, 1987-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações adicionais complementares

**Palavras-chave em inglês:**

Calcarea silicata

Dental cements

Chitosan

**Titulação:** Cirurgião-Dentista

**Data de entrega do trabalho definitivo:** 30-11-2022

## DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho primeiramente a Deus, que é detentor de toda a glória e de todo o bem do mundo.

Dedico também:

Ao meu pai e à minha mãe, Sandro Roberto Carnio e Ana Maria Murillo, por me darem a vida e todo o apoio necessário nesse período em que cursei a faculdade.

Aos meus professores, que fizeram parte de minha vida acadêmica e, com muita dedicação, transmitiram o que tinham de mais precioso, na intenção de nos formar bons profissionais e boas pessoas. Especialmente à minha orientadora, Marina Angélico Marciano da Silva, por toda a paciência com o andamento do projeto e disponibilidade para a resolução dos problemas.

Ao meu coorientador Thiago Bessa Marconato Antunes, que me auxiliou e ensinou a realizar os testes feitos nessa pesquisa, além de auxiliar com a estruturação deste presente trabalho.

Também a todos os que estão em meu coração, mas não em minha memória.

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo” (FAPESP). Agradeço pelo apoio dessa instituição na realização desse trabalho.

Também, agradeço:

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu Reitor, Prof. Dr. Antônio José de Almeida Meireles,

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu Diretor, Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar, e a Diretora associada Profa. Dra. Karina Gonzales Silvério Ruiz,

À coordenação de Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa de seu coordenador, Prof. Dr. Luis Roberto Martins;

À minha orientadora, Profa. Dra. Marina Angélica Marciano da Silva

E ao meu coorientador de iniciação científica, Thiago Bessa Marconato Antunes.

.

## RESUMO

A quitosana é um biopolímero natural, extraído do exoesqueleto de artrópodes, e constitui um material de ampla aplicação devido às suas propriedades antimicrobiana, cicatrizante, reparadora e bioativa. Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a utilização da quitosana no veículo de um experimental cimento obturador dos canais radiculares à base de silicato de cálcio. Como comparação, este estudo avaliou o cimento biocerâmico Bio-C Sealer e um controle, sem a presença de quitosana. Para avaliar o comportamento da adição do biopolímero no veículo desse cimento experimental, os testes físico-químicos da norma ISO 6876/2012, foram empregados ( $n = 6$ ). Para avaliar a caracterização química e cristalina do cimento experimental, foi realizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada a energia dispersiva de raios-X (EDS). O escoamento foi maior para o Bio-C Sealer, com 33,12 mm, em relação aos demais cimentos ( $p < 0,05$ ) experimental e controle, com 16,94 e 19,61 mm, respectivamente. O tempo de presa do cimento experimental foi semelhante ao controle e ao Bio-C ( $p > 0,05$ ), apresentando respectivamente 9h52min, 11h54min e 8h21min. O cimento experimental apresentou menor solubilidade ( $p < 0,05$ ) que o Bio-C, com 0,91 e 1,52, respectivamente. A radiopacidade foi maior para o Bio-C ( $p < 0,05$ ) e igual para os outros cimentos experimental e controle ( $p > 0,05$ ), apresentando 6,75, 3,11 e 3 mmAl, respectivamente. Em MEV, pode-se observar menor tamanho de partículas do Bio-C e maior quantidade de cálcio, por EDS, em relação aos demais cimentos. O cimento com quitosana necessita de aperfeiçoamento na formulação para contemplar as propriedades físico-químicas desejáveis.

**Palavras-chave:** Silicato de cálcio. Cimentos denários. Quitosana.

## ABSTRACT

Chitosan is a natural biopolymer extracted from the arthropod exoskeleton and is a material with wide application due to its antimicrobial, healing, repairing and bioactive properties. Therefore, this study aimed to evaluate the use of chitosan in the vehicle of an experimental calcium silicate-based sealer. As a comparison, this study evaluated Bio-C Sealer bioceramic and a control, without the presence of chitosan. To evaluate the behavior of adding the biopolymer to the vehicle of this experimental cement, the physicochemical tests of the ISO 6876/2012 standard were used ( $n = 6$ ). To evaluate the chemical and crystalline characterization of the experimental sealer, scanning electron microscopy (SEM) coupled with energy dispersive X-rays (EDS) was performed. The flow was greater for the Bio-C Sealer, with 33.12 mm, in relation to the other cements ( $p < 0.05$ ) experimental and control, with 16.94 and 19.61 mm, respectively. The setting time of the experimental cement was similar to that of the control and Bio-C ( $p > 0.05$ ), with respectively 9h52min, 11h54min and 8h21min. The experimental cement showed lower solubility ( $p < 0.05$ ) than Bio-C, with 0.91 and 1.52, respectively. Radiopacity was higher for Bio-C ( $p < 0.05$ ) and the same for the other experimental and control sealer ( $p > 0.05$ ), presenting 6.75, 3.11 and 3 mmAl, respectively. In SEM, one can observe smaller particle size of Bio-C and higher amount of calcium, by EDS, in relation to the other sealer. Sealer with chitosan needs improvement in the formulation to contemplate the desirable physical-chemical properties.

**Keywords:** Calcium Silicate. Dental Cements. Chitosan.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Cimentos e suas respectivas composições	22
Figura 1 - Teste de tempo de presa (A). Teste de solubilidade (B). Teste de radiopacidade (C). Teste de escoamento (D)	24
Figura 2 - Caracterização superficial em MEV (900x) do cimento controle	27
Figura 3 - Caracterização superficial em MEV (900x) do cimento experimental	28
Figura 4 - Caracterização superficial em MEV (900x) do cimento Bio-C Sealer	28
Tabela 1 - Representação da média e do desvio padrão referentes ao escoamento, tempo de presa, solubilidade e radiopacidade dos cimentos	30
Figura 5 - Gráfico da média e desvio padrão do escoamento dos cimentos	31
Figura 6 - Gráfico da média e desvio padrão do tempo de presa dos cimentos....	31
Figura 7 - Gráfico da média e desvio padrão da solubilidade dos cimentos	32
Figura 8 - Gráfico da média e desvio padrão da radiopacidade dos cimentos	32

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODO	22
4.1 Local da Pesquisa	22
4.2 Preparo dos materiais	22
4.3 Caracterização superficial dos cimentos	23
4.4 Análises físico-químicas	23
4.5 Tempo de presa	24
4.6 Escoamento	25
4.7 Solubilidade	25
4.8 Radiopacidade	26
4.9 Análise estatística	26
5 RESULTADOS	27
5.1 Caracterização química superficial dos cimentos	27
5.2 Testes físico-químicos	29
5.3 Escoamento	31
5.4 Tempo de presa – sem umidade	31
5.5 Solubilidade	32
5.6 Radiopacidade	32
6 DISCUSSÃO	34
7 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37
ANEXO 1 - VERIFICAÇÃO DE ORIGINALIDADE E PREVENÇÃO DE PLÁGIO	46
ANEXO 2 – INICIAÇÃO CIENTÍFICA	47
ANEXO 3 – BANCA EXAMINADORA	48



## 1 INTRODUÇÃO

O objetivo final dos procedimentos endodônticos é a obturação de todo sistema de canais radiculares, sendo esta uma etapa de conclusão e de grande importância clínica para o sucesso (Schilder et al., 1967; Schäfer et al., 2002). Nesta fase, a gutapercha em combinação com um cimento obturador deve preencher os espaços vazios ocupados pela polpa dentária e promover um bom vedamento, compacto e homogêneo, em toda a dimensão dos canais, limitando, desta forma, comunicações do espaço pulpar com o ligamento periodontal e recorrência de infecções bacterianas. (Lin et al., 1992; Sjögren et al., 1997; Vieira et al., 2012).

Neste cenário, os cimentos obturadores têm como funções sepultar os microrganismos remanescentes do preparo químico-mecânico, selar os canais radiculares e preencher as irregularidades dos mesmos. Além disso, um cimento obturador ideal necessita contemplar algumas características, que segundo Grossman, 1978, estas incluem a fácil introdução no canal radicular, o preenchimento lateral e apical dos canais, a impermeabilidade na presença de umidade, apresentar propriedades bacteriostáticas, impedir o crescimento bacteriano, ser radiopaco, não manchar a estrutura do dente, ser biocompatível e não provocar a irritação aos tecidos perirradiculares. Acrescentado a isso, a norma ISO 6876/2012 preconiza que um cimento obturador deve apresentar radiopacidade acima de 3 mmAl, solubilidade menor que 3% de perda de massa e escoamento de, no mínimo, 17 mm.

Valendo-se dessas características, o desenvolvimento de biomateriais na endodontia tem sido amplamente proposto. Um biomaterial é uma substância natural, sintética ou semissintética destinada a ser implantada em um ambiente biológico e se caracteriza por ser seguro e funcional, com potencial para restaurar, substituir ou aumentar a função de um tecido (Fakhri et al., 2020). Os cimentos obturadores biocerâmicos são exemplos destes biomateriais, compostos principalmente por silicato dicálcico ( $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ ) e tricálcico ( $\text{Ca}_3\text{SiO}_5$ ), que garantem biocompatibilidade às células fibroblásticas (Zoufan et al., 2011; Zhou et al., 2013), bioatividade (Siboni et al., 2017, Donnermeyer et al., 2019), atividade antimicrobiana (Barbosa et al., 2020; Bose et al., 2020), capacidade de diferenciação osteoblástica (Giacomino et al., 2019) e cicatrização periapical (Zaki et al., 2018).

Inicialmente, os materiais à base de silicato de cálcio foram introduzidos na endodontia pelo professor Torabinejad, em 1995, e tinham como principais funções o selamento de perfurações, o forramento, o capeamento pulpar direto e o preenchimento em retrobturações. Denominado de agregado trióxido mineral (MTA), este foi o material reparador, desenvolvido à base de silicato de cálcio, capaz de produzir tecido mineral semelhante a hidroxiapatita da dentina (Camilleri et al., 2005). Desta forma, para aproveitar essa propriedade bioativa, além da biocompatibilidade do MTA, posteriormente foram produzidos os materiais obturadores dos canais radiculares à base de silicato de cálcio, denominados de biocerâmicos, os quais tiveram a adição de polímeros hidrossolúveis que proporcionaram o escoamento em toda a dimensão e irregularidade dos canais (Camilleri, 2016, 2017). Como vantagem às demais formulações de outros cimentos obturadores, os biocerâmicos são biomateriais, que ao entrarem em contato com a água, produzem uma matriz gelatinosa com formação de hidróxido de cálcio  $[Ca(OH)_2]$ . Este, por sua vez, se dissocia em íons cálcio ( $Ca^{2+}$ ) e hidroxila ( $OH^-$ ), fazendo com que os prótons se unam aos íons fosfato ( $PO_4^{3-}$ ), dos fluidos corporais, e formem fosfato de cálcio  $Ca_3(PO_4)_2$ , um precursor da apatita (Siboni et al., 2017). Além disso, os biocerâmicos apresentam melhor biocompatibilidade em relação aos outros tipos de cimentos obturadores (Zoufan et al., 2011; Sanz et al., 2021).

Recentemente, uma nova formulação dos cimentos biocerâmicos, caracterizados pela terceira geração, apresenta o material na forma pronta para uso, em seringas, com os componentes principais alocados: silicato tricálcico e dicálcico, radiopacificador e um polímero para formar uma pasta e garantir fluidez. No entanto, não há água nesta mistura, pois a sua presença acarretaria na presa do cimento ainda dentro da seringa. Sendo assim, o objetivo desta nova formulação parte do princípio que o material tomará a presa nos canais radiculares através da água proveniente do fluido dentinário. Como exemplo destes cimentos, tem-se o EndoSequence BC Sealer e o EndoSequence BC Sealer HiFlow, o TotalFill e o TotalFill HiFlow, o Bio-C Sealer, o Sealer Plus BC e o iRoot SP.

Como mencionado, os cimentos biocerâmicos contém polímeros utilizados como veículo que garantem o escoamento e o preenchimento nos canais, uma vantagem devido a consistência arenosa que o pó de silicato dicálcico e tricálcico apresenta quando somente misturados com água. Desta forma, o polímero

proporciona melhor manipulação e plasticidade ao cimento (Camilleri, 2017). Além disso, um estudo revelou que o polímero adicionado ao cimento biocerâmico reforça a ligação orgânica e inorgânica entres esses compostos e melhora ainda mais as propriedades do material (Zhou et al., 2018).

Os polímeros são macromoléculas muito utilizadas na engenharia tecidual e incorporadas aos biomateriais, podendo ser tanto sintéticos quanto naturais (Wei et al., 2020). Nos cimentos obturadores biocerâmicos, os polímeros são do tipo sintéticos, como o Polietilenoglicol (PEG), presente no Bio-C Sealer, e o policarboxilato (PC), no BioRoot RCS. No entanto, não há ainda nenhum cimento obturador contendo polímeros naturais, como os polissacarídeos representados pela quitosana, o alginato, a celulose e o ácido hialurônico (Fakhri et al., 2020; Wei et al., 2020).

Dentre esses, a quitosana é um biopolímero, constituído por unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose unidas por ligações glicosídicas  $\beta$  (1-4) (Borzacchiello et al., 2001), que tem sido largamente utilizada na área biomédica e é obtida através da desacetilação da quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose, presente na estrutura do exoesqueleto de artrópodes e nas paredes celulares dos fungos. Neste processo de desacetilação da quitina, em soluções alcalinas, o grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) da cadeia molecular se tornará livre do grupamento acetila ( $-\text{COCH}_3$ ) e garantirá a bioatividade da molécula, a qual se denominará por quitosana. Este biopolímero é utilizado na área médica, agrícola, cosmética, alimentícia, farmacêutica e odontológica (Kumar, 2004; Muxika et al., 2017; Fakhri et al., 2020). Nesta última, ela tem sido usufruída em procedimentos de regeneração dentino-pulpar, nos tratamentos de estomatite e candidíase, na remineralização do esmalte, nos revestimentos de implantes dentários e no tratamento de periodontites e infecções endodônticas (Fakhri et al., 2020; Zhang et al., 2021). Tudo isso é possível graças a sua bioatividade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades anticancerígenas e antioxidantes, não-toxicidade, adesão celular e atividades antibacterianas e antifúngicas (Hu et al., 2020; Fakhri et al., 2020).

Há na literatura estudos de membranas e hidrogéis com compósitos formados pela associação dos polímeros polietilenoglicol (PEG) e quitosana (Hashemi et al., 2013; Koosehbol et al. 2017; Pereira et al., 2019; Chin et al., 2020;) que revelam

potencial efeito para cura de úlceras e cicatrização de feridas e para atividade antimicrobiana, com redução de gram-negativos e leveduras. O polietilenoglicol é um polímero sintético, hidrofílico, atóxico e não-inflamatório que torna uma mistura ideal com a quitosana e reforça as propriedades mecânicas do material (Pereira et al., 2019).

No campo da endodontia, a quitosana é utilizada na incorporação de materiais para scaffolds de procedimentos regenerativos pulpaes com potencial efeito antimicrobiano e de viabilidade celular (Ducret et al., 2019; Aksel et al., 2020), além de promover a regeneração dentinária através da bioatividade sobre células da polpa dentária e deposição de matriz mineralizada (Budiraharjo et al., 2010; Palma et al., 2017; Soares et al., 2017; Abbas et al., 2020; Bordini et al., 2020; Cassiano et al., 2020; Soares et al., 2020; Sato et al., 2021). Também, neste aspecto bioativo, a quitosana utilizada como um veículo para o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), em procedimentos de capeamento pulpar, promove a diferenciação odontogênica de células indiferenciadas da polpa (Wu et al., 2019). Além destas, outra forma da sua utilização na endodontia é através da irrigação como um agente quelante, na qual a maioria dos estudos revelaram que 0,2% de quitosana é mais efetiva que o EDTA 17%, o ácido cítrico 10%, o MTAD e o ácido peracético 1% para remoção de smear layer (Darrag et al., 2014; Silva et al., 2012; Kamble et al., 2017; Zhou et al., 2018; Agarwal et al., 2020; Ozlek et al., 2020).

Devido ao grupo protonado de  $\text{NH}^+$  na cadeia polimérica da quitosana, ela apresenta uma das propriedades mais interessantes e aplicáveis que é a capacidade antimicrobiana com perfil bacteriostático. Esses prótons interagem com os componentes carregados negativamente na parede celular dos microrganismos, como os fosfolípidios, as proteínas e os carboidratos, e aumentam a permeabilidade celular, ocasionando o extravasamento do conteúdo intracelular e conseqüentemente a morte do microrganismo (Kong et al., 2010). O espectro de ação deste biopolímero atinge bactérias, principalmente gram-positivas, e leveduras, com alto potencial de impedir a formação de biofilmes. Foi mostrado que a presença de quitosana 10g/L inibiu a aderência de *Streptococcus mutans* na superfície da hidroxiapatita (Tarsi et al., 1997). Além disso, vários trabalhos revelaram que a quitosana foi capaz de inibir o crescimento de biofilme de *Enterococcus faecalis* (Kishen et al., 2008; Da Silva et al., 2012; Jaiswal et al., 2017; Savitha et al., 2019; Roshdy et al., 2019; Hussein et al.,

2020; Parolia et al., 2020; Supotngarmkul et al., 2020), uma bactéria gram-positiva presente no insucesso endodôntico.

Diante dessas vantagens, tanto dos cimentos à base de silicato de cálcio, quanto do biopolímero de quitosana, este projeto desenvolverá um biomaterial obturador dos canais radiculares, à base de silicato de cálcio, com adição do biopolímero de quitosana na sua composição. Os cimentos estarão em uma dupla seringa com ponta misturadora, na qual um lado conterá o polímero de quitosana, dissolvido em solução aquosa de ácido acético, e no outro, os silicatos de cálcio, o radiopacificador e o polietilenoglicol para garantir viscosidade da mistura com o pó. Após o pressionamento do êmbolo da seringa, os componentes das duas partes serão misturados, iniciando a reação de presa.

Entretanto, para um material ser possível de obturar os canais radiculares, ele necessita apresentar solubilidade adequada, que não se dissolva quando tomado a presa no interior dos canais, seja pela umidade do fluido dentinário ou seja pelos fluidos do ligamento periodontal, pois caso contrário, a instabilidade na cimentação poderá levar nutrientes para as bactérias sobreviventes ao tratamento endodôntico e acarretar no insucesso (Siqueira et al., 2001, 2008; Gomes et al., 2008). Segundo a norma ISO 6876/2012, a solubilidade de um cimento não pode exceder 3% na sua perda de massa, durante 30 dias em água destilada. Neste requisito, sabe-se que os cimentos à base de silicato de cálcio, os quais são hidrofílicos, apresentam alta solubilidade, superando em média 4x a mais a perda de massa mínima preconizada pela ISO (Tanomatu et al., 2017; Torres et al., 2019; Zordan-Bronzel et al., 2019). No entanto, alguns trabalhos avaliando a alteração volumétrica desses cimentos, através de escaneamento em microtomógrafo, antes e após a imersão em líquido, exibem pouca perda de massa, de aproximadamente 1,7% (Tanomatu et al., 2017; Torres et al., 2019; Zordan-Bronzel et al., 2019). Este método tem como vantagem a simulação de uma situação mais clínica (Tanomatu et al., 2017; Torres et al., 2019) em relação ao teste de solubilidade convencional.

Neste trabalho, espera-se que a solubilidade do cimento experimental seja reduzida, visto que terá a associação de dois polímeros, o PEG e a quitosana, os quais aumentam as propriedades mecânicas e apresentarão potencial sinérgico na ligação orgânica e inorgânica com os componentes do cimento (Zhou et al., 2018; Pereira et al., 2019).

Deste modo, o objetivo deste estudo será avaliar as propriedades físico-químicas da norma ISO 6876/2012, de um cimento experimental, contendo o biopolímero de quitosana, juntamente com outro cimento controle, com a mesma composição, porém sem a presença de quitosana, e com o cimento à base de silicato de cálcio pronto para uso, EndoSequence BC Sealer.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Esta revisão abordará os principais estudos que introduziram, de forma incipiente, a quitosana nos cimentos endodônticos e avaliaram seu potencial na redução de biofilmes antimicrobianos.

### 2.1. Uso da quitosana na endodontia

**Nunes et al. (2021)**, avaliaram o efeito antimicrobiano da quitosana em uma medicação à base de hidróxido de cálcio. No trabalho dissolveram 2 g (2%) e 4 g (4%) de quitosana em 100 mL de ácido acético a 4%. Misturaram essas duas concentrações de quitosana com hidróxido de cálcio. Além desses grupos, acrescentaram mais quatro grupos, misturando o hidróxido de cálcio com essas duas concentrações de quitosana, a 2 e 4%, em um grupo com clorexidina e outro com polietilenoglicol 400 (PEG). Para avaliar essas medicações, fizeram teste de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DXR) e difusão em ágar com os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Os espectros de difração de raio X evidenciaram a presença semicristalina da medicação com a presença de hidróxido de cálcio. Em 24 horas de exposição, todos os grupos tiveram efeito antimicrobiano positivo, com maior área de inibição para o grupo de hidróxido de cálcio misturado com clorexidina com quitosana. Os autores concluem que a medicação à base de quitosana é promissora para uma medicação intracanal.

**Elshinawy et al. (2018)**, avaliaram o efeito de nanopartículas de quitosana, bem como nanopartículas de prata e azeite ozonizado na atividade contra biofilmes de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. Avaliaram também o potencial citotóxico dos componentes em fibroblastos gengivais humanos. O grupo de quitosana-NPs exibiu o menor valor de concentração inibitória mínima e de concentração bactericida mínima, exibindo atividade antimicrobiana em oito vezes maior que o grupo com azeite ozonizado. O grupo com prata foi o que menor apresentou efeito antimicrobiano. Quanto a citotoxicidade, o grupo com azeite ozonizado obteve maior biocompatibilidade, seguido da quitosana.

**Abusrewil** et al. (2020), avaliaram o efeito de três soluções irrigantes, EDTA, cloredixina e quitosana, na atividade antimicrobiana de biofilmes inter-reino contendo *Streptococcus gordonii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* e *Candida albicans*. Os resultados mostraram que a quitosana foi mais eficaz para alvejar *C. albicans*.

**Aksel** et al. (2020), buscaram avaliar o efeito antimicrobiano de vários hidrogéis para *scaffolds* de procedimentos regenerativos contra *Enterococcus faecalis* e a capacidade para estimular a proliferação e mineralização de células-tronco da polpa dentária. Para o gel, prepararam 12,5 mg/mL de fibrinogênio e 0,4% de quitosana. Outros grupos de géis antibióticos foram acrescentados, o TAP (metronidazol, ciprofloxacina e monociclina), o mTAP (metronidazol, ciprofloxacina e clindamicina) e o DAP (metronidazol e ciprofloxacina). A avaliação antimicrobiana contra *E. faecalis* foi realizada através das unidades formadoras de colônia (UFC) e microscopia confocal. O estudo mostrou que a quitosana reduziu significativamente as UFCs, além de manter a viabilidade celular, a proliferação celular e a mineralização.

**Dragland** et al. (2019), avaliaram a atividade antimicrobiana de um cimento à base de óxido de zinco e eugenol modificado com quitosana e oligossacarídeo de quitosana. Essa atividade foi avaliada por meio do teste de contato direto modificado (MDCT) com os microrganismos *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus epidermidis*, com os cimentos imediatamente após a presa e após 18 semanas. Os resultados mostraram que a incorporação de quitosana ao cimento pode ter efeito antimicrobiano para algumas espécies de bactérias.

**Da Silva** et al. (2012), avaliaram a formação de biofilme na interface entre o cimento e a dentina de segmentos de raiz obturados com cimento incorporado por partículas de quitosana. Esses segmentos de dentes bovinos, com 4 mm de espessura, foram obturados com guta-percha e o cimento Pulp Canal Sealer com partículas de quitosana. O biofilme de *Enterococcus faecalis* foi cultivado por 7 dias e avaliado em microscopia confocal. Essa incorporação inibiu a formação de biofilme na interface dentina-cimento.

**Ozlek** et al., (2020) verificaram a eficácia da irrigação do canal radicular com quitosana quanto a resistência ao deslocamento utilizando o cimento MTA Fillapex. Para isso, instrumentaram 57 pré-molares inferiores humanos e dividiram em três grupos de

solução irrigante: 0,2% de quitosana, 17% de EDTA e solução salina. Um subgrupo para cada tipo de irrigante foi adicionado, tendo agitação ultrassônica ou sem agitação. Os resultados de resistência foram mensurados por teste push-out. Os canais irrigados com quitosana apresentaram maiores valores de resistência de união em relação ao EDTA e a solução salina. Os canais irrigados com solução salina apresentaram a menor resistência.

**Savitha** et al. (2019), avaliaram a adição de quitosana em uma medicação intracanal. Selecionaram 45 dentes permanentes humanos monorradiculares, e após a instrumentação e desinfecção do canal, colocaram as medicações com 2% de clorexidina, 2% de quitosana e 2% de clorexidina e quitosana. A medicação permaneceu no canal por 7 dias e o microrganismo *Enterococcus faecalis* foi quantificado por qPCR. O estudo mostrou que a combinação de clorexidina e quitosana obteve efeito sinérgico contra *E. faecalis*, e sugerem que a medicação poderia ser utilizada em caso de insucessos endodônticos.

**Maharti** et al. (2022), objetivaram comparar as características físico-químicas e a biocompatibilidade de um novo cimento à base de silicato de cálcio e quitosana com o AH Plus e o Sure-Seal Root. O silicato tricálcico foi sintetizado a partir do silicato de cálcio e hidróxido de cálcio. Então, o pó foi misturado com 2% de quitosana solúvel em água na proporção de 5:1. A caracterização do cimento foi analisada por FTIR e DXR. O testes físico-químicos como espessura de filme e escoamento foram realizados conforme a norma ISO 6876/2012. Para avaliar a biocompatibilidade, utilizaram o teste MTT com células fibroblásticas embrionárias de ratos. Os testes ISO evidenciaram escoamento de 31,98 mm, para o cimento à base de quitosana, diferindo estatisticamente dos demais cimentos Sure-Seal Root e AH Plus que apresentaram escoamento, respectivamente, de 26,38 e 26,50. A espessura de filme evidenciou diferença estatística do cimento à base de quitosana em relação ao Sure-Seal Root e AH Plus, com valores respectivos de 60, 50 e 40 mm. O cimento experimental de quitosana apresentou baixa citotoxicidade.

**Carpio-Perochena** et al. (2015), avaliaram o efeito da carboximetilquitosana e nanopartículas de quitosana incorporadas nos cimentos MTA Fillapex e ThermaSeal Plus na inativação de biofilmes e prevenção de sua formação na interface entre dentina e cimento. Para isso, utilizaram-se de 30 discos de dentes bovinos contendo 5 mm de diâmetro e instrumentaram até a lima #80. As amostras foram contaminadas

com *E. faecalis*. A adição da nanopartícula de quitosana inibiu a penetração microbiana e sua colonização na interface dentina-cimento.

**Carpio-Perochena** et al. (2017), avaliaram o efeito antimicrobiano da nanopartículas de quitosana incorporada ao hidróxido de cálcio. Para isso infectaram a dentina de raízes de dentes humanos com *E. faecalis*, e avaliaram a unidade formadora de colônia na medicação em 7 e 14 dias. Os resultados mostraram que essa incorporação aumenta a atividade antimicrobiana e inibe a recolonização bacteriana sobre a dentina do canal radicular.

### 3 PROPOSIÇÃO

#### **Objetivos gerais:**

Avaliar um cimento experimental, dos canais radiculares, à base de silicato de cálcio, utilizando o biopolímero de quitosana e comparar sua característica com o cimento biocerâmico pronto para uso, Bio-C Sealer, e com outro controle sem a presença de quitosana.

#### **Objetivos específicos:**

- Avaliar, através do padrão ISO 6876/2012, os testes físico-químicos dos cimentos, como o escoamento, o tempo de presa, a solubilidade e a radiopacidade;
- Caracterizar a superfície dos cimentos e a sua composição por meio de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia por energia dispersiva (MEV/EDS).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Local da Pesquisa

Os testes físico-químicos foram realizados no Laboratório de Endodontia da FOP-Unicamp. A análise em MEV e EDS foi realizada no laboratório do Centro de Microscopia e Imagens da mesma instituição.

### 4.2. Preparo dos materiais

Para este estudo foram avaliados os seguintes materiais:

- **Bio-C Sealer** (Angelus, Londrina, PR, Brasil);
- **Cimento Experimental**;
- **Cimento Controle**.

O quadro 1 exibe os materiais e os componentes do pó e do líquido.

**Quadro 1.** Cimentos e suas respectivas composições.

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	
	Componentes principais	Componentes aquosos
<b>Bio-C Sealer</b>	Silicato de cálcio, aluminato tricálcico, óxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de ferro, dióxido de silício e polietilenoglicol	Água
<b>Experimental</b>	16% - óxido de zircônio, 80% - silicato de cálcio, 2% hidróxido de cálcio e 0,95 mL - polietilenoglicol (PEG).	2% de quitosana dissolvida em 2% de solução aquosa de ácido acético
	16% - óxido de zircônio, 80% - silicato de cálcio, 2%	

<b>Controle</b>	hidróxido de cálcio e 0,95 mL - polietilenoglicol (PEG).	2% de solução aquosa de ácido acético
-----------------	--	---------------------------------------

### ***Preparo dos materiais***

- **Quitosana:** 0,2 g de quitosana (Polymar, CE, Brasil) foi adicionada em uma solução contendo 0,2 mL de ácido acético com 9,8 mL de água destilada. A solução, contida em um becker, foi deixada sob um agitador por 24 horas a 430 rpm;
- **Cimento Experimental:** foram misturados 0,04 g de hidróxido de cálcio, 0,032 g de óxido de zircônio e 1,6 g de silicato de cálcio com 0,95 mL de polietilenoglicol. Essa pasta foi em seguida misturada com 0,2 mL da solução de quitosana;
- **Cimento Controle:** foram misturados 0,04 g de hidróxido de cálcio, 0,032 g de óxido de zircônio e 1,6 g de silicato de cálcio com 0,95 mL de polietilenoglicol. Essa pasta foi em seguida misturada com 0,2 mL de ácido acético.

### **4.3. Caracterização superficial dos cimentos**

Para a caracterização superficial, os cimentos foram manipulados e inseridos separadamente em moldes de aço inoxidável com dimensões de 10 mm de diâmetro por 1 mm de espessura. Depois disso, as amostras foram revestidas com carbono.

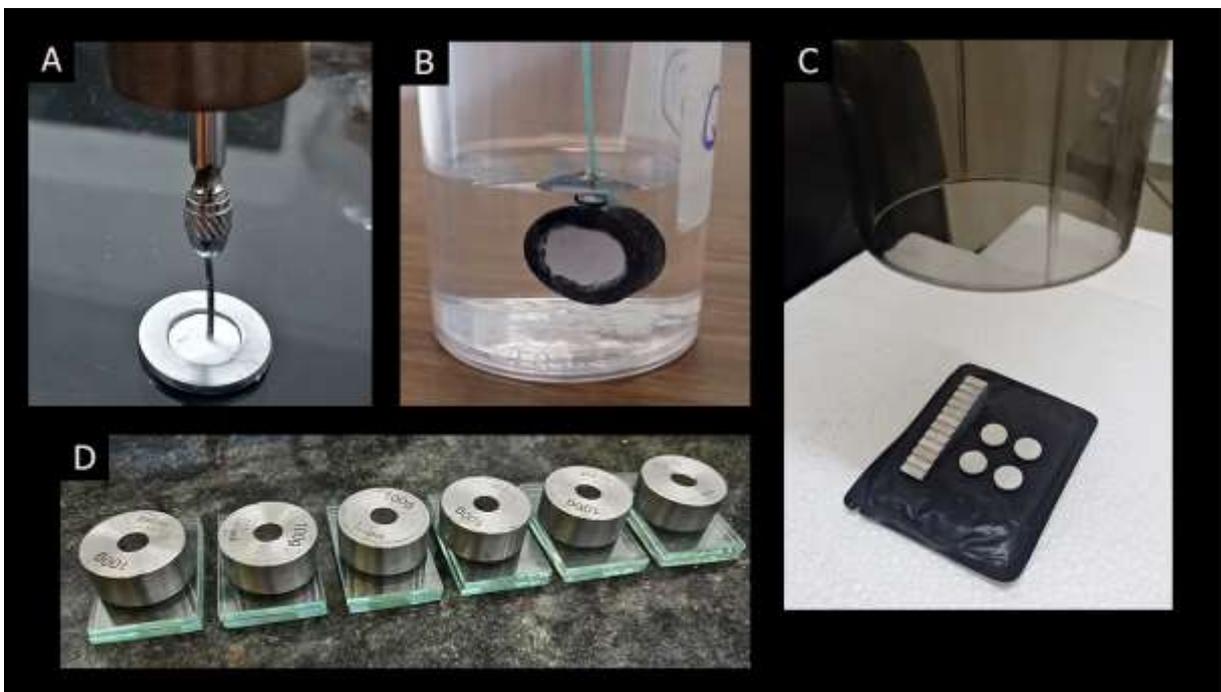
A superfície dos cimentos foi caracterizada utilizando microscópio eletrônico de varredura - MEV (JSM 5600, JEOL, Japão) no modo de retroespalhamento. A detecção de elementos químicos dos cimentos foi obtida através da espectroscopia de energia dispersiva (EDS) acoplada ao MEV. As micrografias foram obtidas com magnificação de 900x.

### **4.4. Análises físico-químicas**

As propriedades físico-químicas avaliadas foram:

- **Tempo de presa**
- **Escoamento**
- **Solubilidade**
- **Radiopacidade**

Os testes foram realizados conforme a norma ISO 6876/2012. Para cada grupo, foram confeccionadas 6 amostras de cimentos. A figura 1 demonstra cada teste realizado.



**Figura 1.** Teste de tempo de presa **(A)**. Teste de solubilidade **(B)**. Teste de radiopacidade **(C)**. Teste de escoamento **(D)**.

#### 4.5 Tempo de presa

Após a manipulação, o cimento foi aplicado dentro de anéis de aço inoxidável, contendo 10 mm de diâmetro e 2 mm de altura, sobre uma placa de vidro. O conjunto foi incluído em um bloco de metal e levado em uma estufa a 37°C com umidade relativa de 95 %. Uma agulha de Gilmore, com massa de 100 g e 2 mm de diâmetro em sua ponta cilíndrica, foi posicionada perpendicularmente ao cimento e o tempo de presa foi determinado quando não houve mais a marcação da agulha sobre o material.

#### 4.6 Escoamento

O cimento foi incluído em uma seringa de 1 mL, aplicando 0,5 mL do mesmo em uma placa de vidro. A placa apresenta as seguintes dimensões: 40 mm X 40 mm, com 5 mm de espessura. Após 180 segundos do início da manipulação, uma segunda placa de vidro, com massa de 20 g, foi colocada centralmente em cima do cimento, seguido da colocação de um peso de 100 g, totalizando 120 g sobre o material. Após 10 minutos do início da manipulação, o peso e a placa foram removidos e o diâmetro menor e maior do disco da compressa de cimento foi mensurado através de um paquímetro.

#### 4.7 Solubilidade

Esta avaliação foi uma adaptação entre a norma ISO 6876 e a metodologia de Tanomaru et al., 2017 e Carvalho-Junior et al., 2007. Para o preparo das amostras, o cimento recém manipulado foi inserido em um anel de plástico (teflon), contendo 7,75 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura, sobre uma placa de vidro. Um fio de nylon foi amarrado em uma perfuração na parede de cada molde. Após isso, os moldes de cimento foram armazenados em uma estufa por um período 50% superior ao tempo de presa do material, na temperatura de 37°C e com 95% de umidade. Para o cimento Bio-C Sealer, o qual necessita de umidade para tomar presa, duas porções de algodão úmido foram posicionadas entre o molde e a placa de vidro. O fio de nylon foi fixado na tampa dos frascos que abrigarão os moldes e a água. Estes frascos foram pesados, sem a tampa e os moldes, antes de inserir a água, em uma balança analítica (Ohaus-Adventurer AR2140, SP, Brasil). Então, cada amostra de cimento foi imersa nos frascos de plásticos individuais, contendo 7,5 mL de água destilada, e armazenada na estufa por um período de 30 dias. Após esse período, as amostras foram colocadas em uma estufa a 60°C por 24 horas, para desidrata-las e não ter o peso da água influenciando na medida. Novamente, os frascos, sem a tampa com os moldes fixados, tiveram suas massas verificadas na balança. Para o cálculo da perda de massa, a seguinte equação foi utilizada:

$$\textit{Perda de massa} (\%) = 100 - \frac{100 \cdot Pf}{Pi}$$

Na qual,

**Pf** = Peso final

**Pi** = Peso inicial

#### 4.8 Radiopacidade

Para o teste de radiopacidade, os cimentos, após a manipulação, foram inseridos em anéis de aço inoxidável, com dimensões de 10 mm de diâmetro por 1 mm de espessura, sobre uma placa de vidro. Até a completa presa dos materiais, estes foram estocados em estufa a 37°C. Após o tempo de presa final, uma lixa de granulação 600 foi utilizada para lixar a superfície dos cimentos em excesso e deixá-los uniformizados na dimensão. Em seguida, as amostras foram radiografadas sobre um sensor digital oclusal (Micro-Image, São Paulo, Brasil) juntamente com uma escala de alumínio, a qual permitirá a análise da densidade radiográfica. Esta escala é composta por 12 degraus de alumínio, com comprimento de 48,15 mm e altura de 1 mm a cada degrau. Na tomada radiográfica, a kilovtagem correspondeu a 60 kV, a miliamperagem a 10 mA, o tempo de exposição a 0,3 segundos e a distância foco/filme a 30 cm. A radiopacidade foi avaliada por meio da análise dos níveis de cinza das imagens obtidas com o software ImageJ. Os valores de radiopacidade foram expressos em milímetros de alumínio.

#### 4.9. Análise Estatística

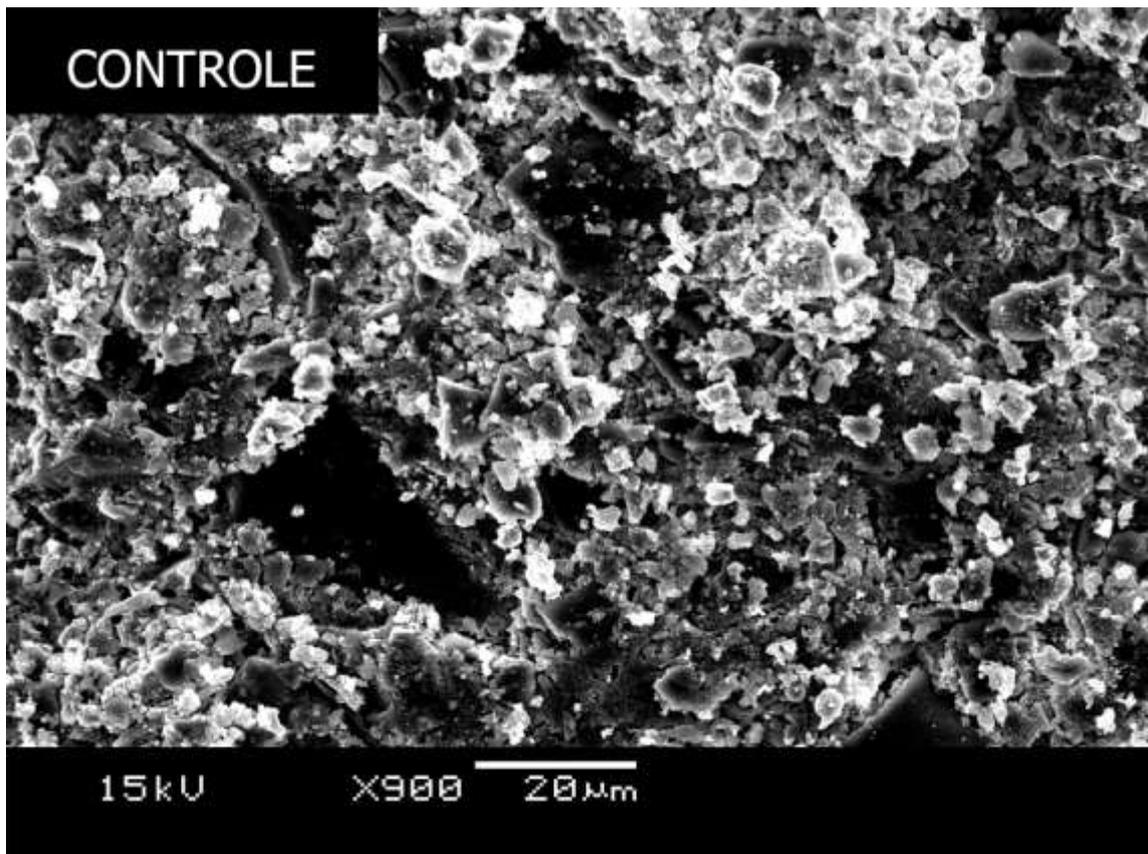
ANOVA foi o teste estatístico gerado para todas as análises físico-químicas medindo o efeito dentro e entre os grupos nas diferentes temperaturas. A normalidade dos dados foi avaliada através do teste de Levene. Para observar se houve diferença estatística entre os grupos, foi utilizado o teste post-hoc de Tukey, no qual o nível de significância correspondeu a 0,05 (5%), ou seja,  $P < 0,05$ .

A análise de caracterização química dos cimentos, foram realizadas através de observação qualitativa das micrografias e gráficos obtidos em EDS.

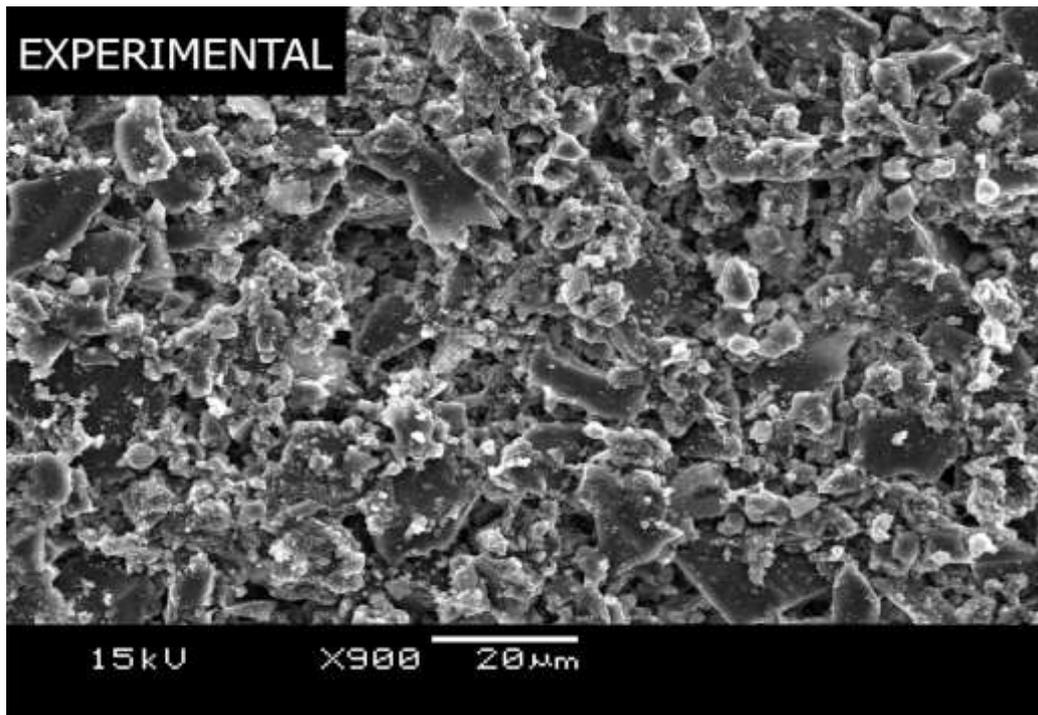
## 5 RESULTADOS

### 5.1. Caracterização química superficial dos cimentos

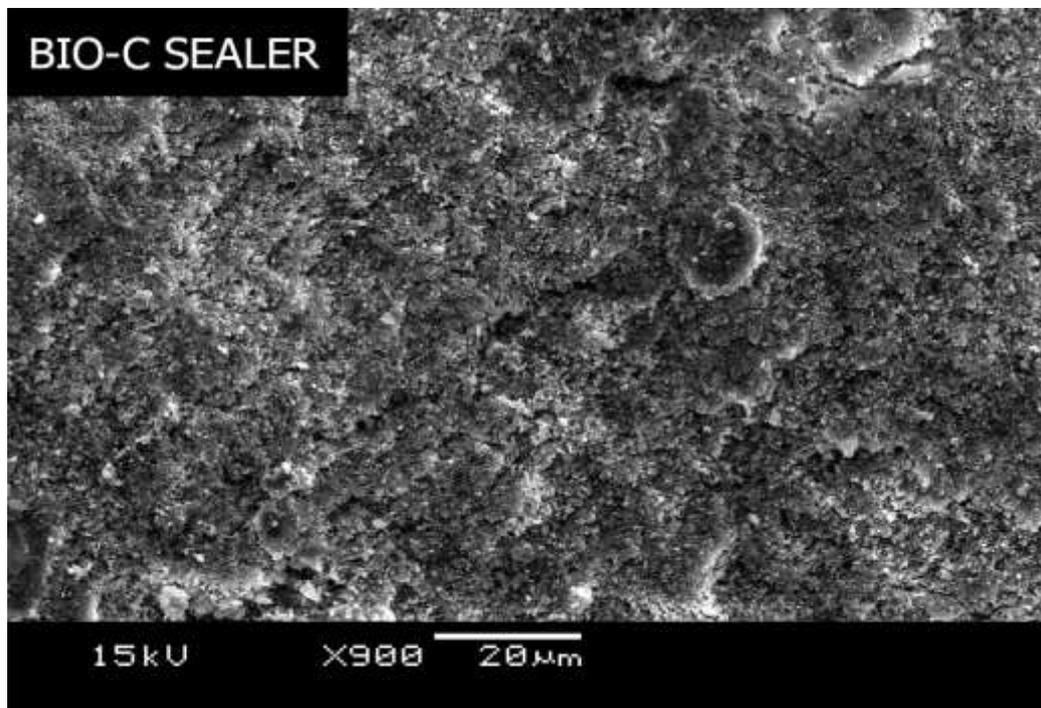
A caracterização superficial dos cimentos obtidas por micrografias em MEV são exibidas nas figuras 2,3 e 4.



**Figura 2.** Caracterização superficial em MEV (900x) do cimento controle.



**Figura 3.** Caracterização superficial em MEV (900x) do cimento experimental.



**Figura 4.** Caracterização superficial em MEV (900x) do cimento Bio-C Sealer.

As imagens em MEV, do cimento experimental, observou-se partículas grandes correspondentes ao silicato de cálcio, arredondadas, e ao hidróxido de cálcio, em formas de placas. De forma igual, teve-se essa mesma aparência no cimento controle, sem a presença de quitosana. Quanto ao Bio-C Sealer, observa-se partículas pequenas do material comparado aos outros grupos.

Em EDS, o cimento controle apresentou 61,54% e 4,67% de Si e Ca, respectivamente. O cimento experimental apresentou 79,67% e 5,96% de Si e Ca, respectivamente. E o Bio-C Sealer apresentou 16,24% e 46,49% de Si e Ca, respectivamente.

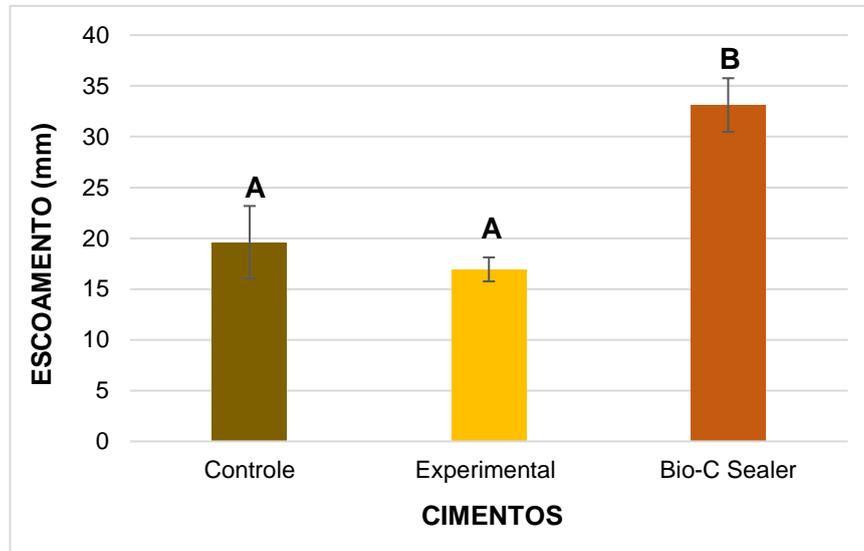
## **5.2. Testes físico-químicos**

As médias e desvio padrão dos resultados referentes ao escoamento, tempo de presa, solubilidade e radiopacidade, do cimento controle, experimental e Bio-C Sealer estão apresentados na tabela 1. Os gráficos da média e do desvio padrão dos testes de escoamento, tempo de presa, solubilidade e radiopacidade estão representados respectivamente nas figuras 5, 6, 7 e 8. Todos os resultados apresentaram normalidade dos dados ( $p < 0,01$ ).

**Tabela 1.** Representação da média e do desvio padrão referentes ao escoamento, tempo de presa, solubilidade e radiopacidade dos cimentos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cada cimento referente a cada teste avaliado.

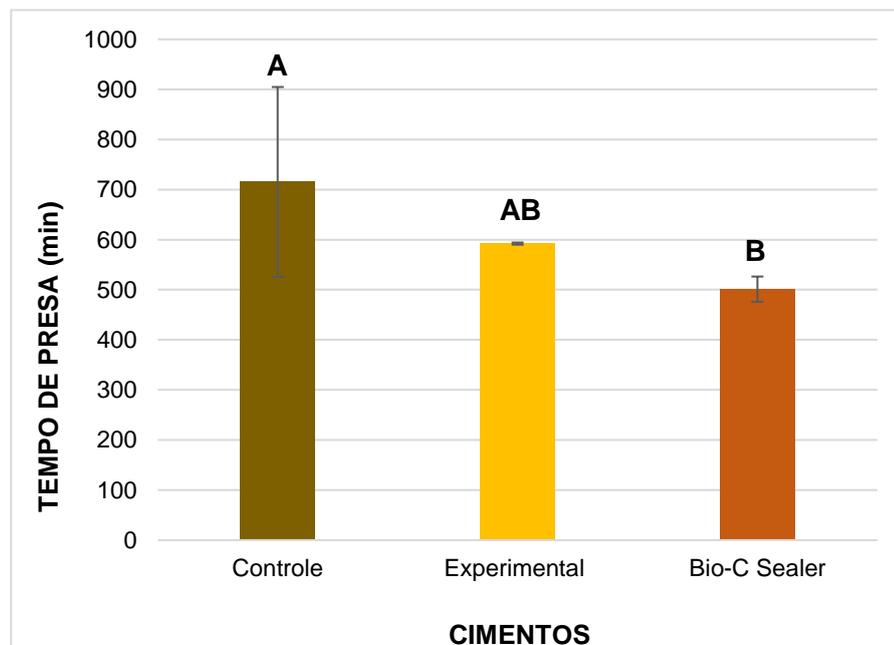
Material	Escoamento (mm)	Tempo de presa (min)	Solubilidade - 30 dias (%)	Radiopacidade (mmAl)
Controle	19,61 ± 3,57 <sup>A</sup>	715,16 ± 189,65 <sup>A</sup>	2,905 ± 0,40 <sup>A</sup>	3 ± 0,3 <sup>A</sup>
Experimental	16,94 ± 1,18 <sup>A</sup>	592,16 ± 2,13 <sup>AB</sup>	0,91 ± 0,34 <sup>B</sup>	3,11 ± 0,58 <sup>A</sup>
Bio-C Sealer	33,12 ± 2,64 <sup>B</sup>	501,16 ± 25,21 <sup>B</sup>	1,52 ± 0,16 <sup>C</sup>	6,75 ± 0,13 <sup>B</sup>

### 5.3 Escoamento



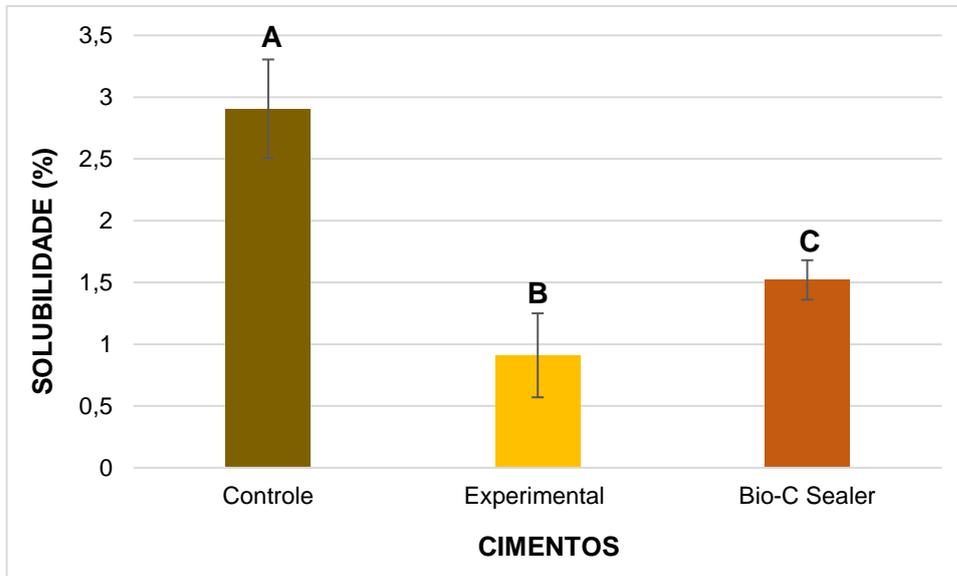
**Figura 5.** Gráfico da média e desvio padrão do escoamento dos cimentos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cada cimento.

### 5.4 Tempo de Presa



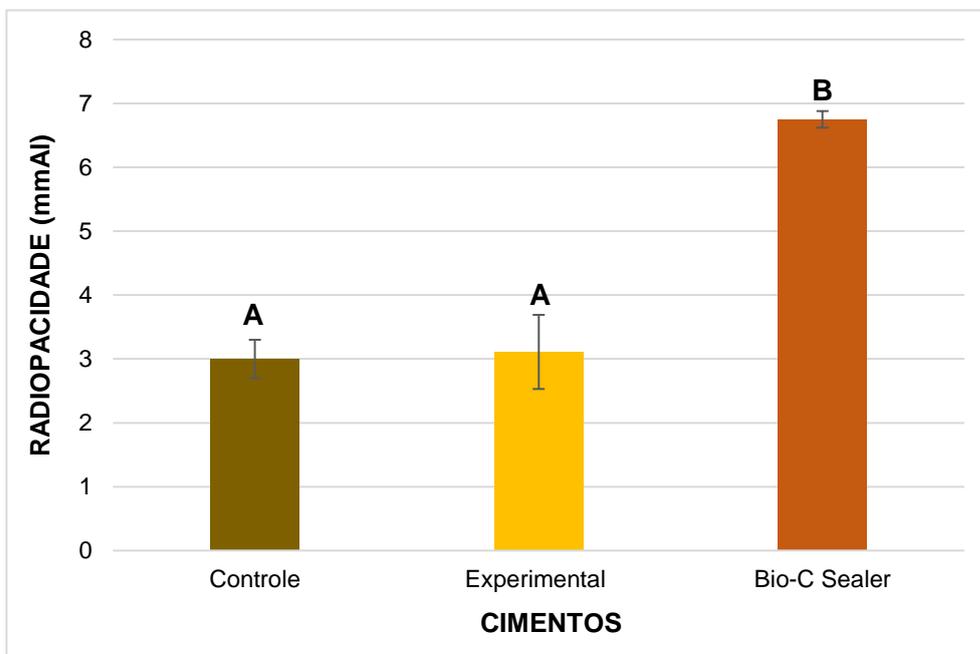
**Figura 6.** Gráfico da média e desvio padrão do tempo de presa dos cimentos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cada cimento.

## 5.5 Solubilidade



**Figura 7.** Gráfico da média e desvio padrão da solubilidade dos cimentos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cada cimento.

## 5.6 Radiopacidade



**Figura 8.** Gráfico da média e desvio padrão da radiopacidade dos cimentos. Letras diferentes indicam diferença estatística entre cada cimento.

Os resultados do escoamento mostraram valores de 19,61, 16,94 e 33,12, respectivamente, para os cimentos controle, experimental e Bio-C Sealer. O experimental foi o único que manteve abaixo do mínimo preconizado pela norma ISO, de 17 mm, porém se aproximou em 0,06 desse valor. Estatisticamente não se teve diferença estatística entre o experimental e o controle ( $p > 0,01$ ). O cimento Bio-C Sealer apresentou maior escoamento e diferiu estatisticamente dos demais cimentos ( $p < 0,01$ ).

O tempo de presa correspondeu a 11h55min, 9h52min e 8h21min, respectivamente, para os cimentos controle, experimental e Bio-C Sealer. O tempo de presa para o controle e o experimental foi igual estatisticamente ( $p > 0,05$ ). Quanto ao Bio-C Sealer, este não diferiu estatisticamente do cimento experimental ( $p > 0,01$ ), mas apresentou menor tempo de presa que o controle ( $p < 0,01$ ).

A solubilidade apresentou porcentagem de perda de massa de 2,05, 0,91, e 1,52, respectivamente, para o cimento controle, experimental e Bio-C Sealer. Todos os cimentos apresentaram diferença estatística entre si ( $p < 0,05$ ). O cimento controle apresentou a maior solubilidade e o experimental a menor. A norma ISO preconiza, ser o ideal, a perda de massa não ser maior que 3%.

Por fim, a radiopacidade apresentou valores de 3, 3,11 e 6,75, respectivamente, para os cimentos controle, experimental e Bio-C Sealer. O cimento controle e experimental não apresentaram diferença estatística ( $p = 0,86$ ). Já o Bio-C Sealer, apresentou a maior radiopacidade ( $p < 0,05$ ) comparado aos outros cimentos e foi o único que se conformou dentro do parâmetro da ISO que preconiza, ser o ideal, a radiopacidade ser maior que 3 mmAl.

## 6 DISCUSSÃO

Os cimentos obturadores dos canais radiculares precisam ter propriedades adequadas para o perfeito selamento e impedimento de recolonização bacteriana. De acordo com Gossman, em 1978, o cimento obturador ideal precisa apresentar características bacteriostáticas, ter radiopacidade, não manchar a estrutura dentária, apresentar biocompatibilidade, ter fácil introdução no canal radicular, permitir o escoamento lateral e apical dos canais e ser impermeável em umidade. Segundo a norma ISO 6876/2012, os cimentos obturadores precisam apresentar radiopacidade mínima de 3 mmAl, solubilidade de no máximo 3% da perda de massa, escoamento de no mínimo 17 mm.

Dentro do princípio da biocompatibilidade e bioatividade, os cimentos biocerâmicos são referência para casos que necessitam de reparo e cicatrização dos tecidos, como em perfurações, rizogêneses incompletas, retrobturações e reabsorções radiculares. No entanto, a solubilidade e a atividade antimicrobiana são fatores que precisam ser melhorados. O pH dos cimentos biocerâmicos nem sempre atingem a alcalinidade suficiente para eliminar bactérias resistentes ao preparo químico-mecânico como a *Enteococcus faecalis*. Dessa forma, o cimento experimental da presente pesquisa objetivou introduzir o estudo da adição do biopolímero de quitosana ao silicato de cálcio e formular um cimento que tivesse ação sinérgica ao pH dos cimentos biocerâmicos na atividade antimicrobiana.

Como esse cimento é uma experimentação inicial, antes de se atingir os objetivos de atividade antimicrobiana e biocompatibilidade, é necessário ajustar a formulação para primeiro obter ótimas propriedades físico-químicas importantes como tempo de presa, escoamento, radiopacidade e solubilidade. Com isso, este presente estudo focou nesses primeiros testes.

Em EDS, foi verificado que o Bio-C Sealer apresentou maior quantidade de cálcio que os outros cimentos. Isso pode ser explicado devido à presença do silicato tricálcico e dicálcico no Bio-C em relação ao cimento experimental que contém apenas silicato de cálcio e 2% de hidróxido de cálcio. Logo, a quantidade de cálcio é menor. Como os íons cálcio são imprescindíveis para a bioatividade e formação de fosfato de cálcio, deve-se pensar em substituir o composto silicato de cálcio por silicato tricálcico.

No cimento experimental formulado, as partículas se apresentam em tamanhos maiores que o cimento Bio-C Sealer e esse fato pode interferir no escoamento. Como foi verificado, o escoamento do cimento experimental correspondeu a 16,18 mm menor que do Bio-C. Nesse aspecto, será possível reduzir o tamanho das partículas ou acrescentar a quantidade de polímero (quitosana ou PEG) no cimento, a fim de escoar mais e permitir penetração nos túbulos dentinários e nos canais laterais e secundários.

A radiopacidade do cimento com quitosana apresentou valores (3,11 mmAl) no limite preconizado pela norma ISO, de 3mm Al, e poderia aumentar a quantidade de radiopacificador para acima de 16%, que foi a porcentagem de óxido de zircônio incorporado ao cimento. Assim, será interessante adicionar quantidade de radiopacificador para se aproximar de 6 mm correspondente à radiopacidade do Bio-C Sealer.

O tempo de presa do cimento experimental resultou em valor alto, de 9h e 52 min, um pouco maior que o Bio-C Sealer, que obteve 8h e 21 min. Como se sabe, os cimentos à base de silicato de cálcio tomam presa em contato com umidade. É justificável o tempo longo do Bio-C por ser pronto para uso e necessitar de umidade do ambiente. No entanto, o cimento experimental contém água na solução de quitosana e esperava-se ter a presa mais rapidamente. Esse fato deve ser repensado para acelerar a reação, adicionando cloreto de cálcio ou acrescentando maior quantidade de água.

Em relação à solubilidade, o cimento experimental apresentou 0,91% da perda de massa do cimento, valor este menor que do Bio-C Sealer. Visualmente, foi observado maior precipitação de pó do cimento experimental em relação ao Bio-C, e este foi observado um precipitado translúcido que ao verificar a massa nos recipientes, a densidade do cimento experimental foi muito menor que do Bio-C.

Com esses achados, antes de introduzir os testes antimicrobianos e biocompatibilidade em cultura celular, deve-se privar em aperfeiçoar a fórmula do cimento experimental para atingir maior radiopacidade, maior quantidade de cálcio, maior escoamento e menor tempo de presa.

## 7 CONCLUSÃO

Dentro do objetivo deste estudo, pode-se concluir que:

- O cimento experimental apresentou escoamento abaixo do exigido pela norma ISO 6876/2012;
- A solubilidade foi menor que 3% exigido pela mesma norma;
- A radiopacidade está no limite do mínimo preconizado pela norma;
- O tempo de presa é longo
- Antes de prosseguir para os testes antimicrobianos, a formulação do cimento necessita ser aperfeiçoada para contemplar melhor as características ideais de um cimento obturador.

## REFERÊNCIAS

A.M. Darrag. Effectiveness of different final irrigation solutions on smear layer removal in intraradicular dentin. *Tanta Dental Journal*. Volume 11, Issue 2, 2014, Pages 93-99. ISSN 1687-8574.

Abbas KF, Tawfik H, Hashem AAR, Ahmed HMA, Abu-Seida AM, Refai HM. Histopathological evaluation of different regenerative protocols using Chitosan-based formulations for management of immature non-vital teeth with apical periodontitis: In vivo study. *Aust Endod J*. 2020 Dec;46(3):405-414.

Abusrewil S, Brown JL, Delaney CD, Butcher MC, Kean R, Gamal D, Scott JA, McLean W, Ramage G. Filling the Void: An Optimized Polymicrobial Interkingdom Biofilm Model for Assessing Novel Antimicrobial Agents in Endodontic Infection. *Microorganisms*. 2020 Dec 14;8(12):1988.

Agarwal S, Raghu R, Shetty A, Gautham PM, Souparnika DP. An in vitro comparative evaluation of the effect of three endodontic chelating agents (17% ethylenediamine tetraacetic acid, 1% peracetic acid, 0.2% chitosan) on the push out bond strength of gutta percha with a new bioceramic sealer (BioRoot RCS). *J Conserv Dent*. 2019 Sep-Oct;22(5):475-478.

Aksel H, Mahjour F, Bosaid F, Calamak S, Azim AA. Antimicrobial Activity and Biocompatibility of Antibiotic-Loaded Chitosan Hydrogels as a Potential Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. *J Endod*. 2020 Dec;46(12):1867-1875.

Baghdadi I, Zaazou A, Tarboush BA, Zakhour M, Özcan M, Salameh Z. Physicochemical properties of a bioceramic-based root canal sealer reinforced with multi-walled carbon nanotubes, titanium carbide and boron nitride biomaterials. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020 Oct;110:103892.

Barbosa VM, Pitondo-Silva A, Oliveira-Silva M, Martorano AS, Rizzi-Maia CC, Silva-Sousa YTC, Castro-Raucci LMS, Raucci Neto W. Antibacterial Activity of a New Ready-To-Use Calcium Silicate-Based Sealer. *Braz Dent J*. 2020 Nov-Dec;31(6):611-616.

Bordini EAF, Cassiano FB, Silva ISP, Usberti FR, Anovazzi G, Pacheco LE, Pansani TN, Leite ML, Hebling J, de Souza Costa CA, Soares DG. Synergistic potential of

1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and calcium-aluminate-chitosan scaffolds with dental pulp cells. *Clin Oral Investig*. 2020 Feb;24(2):663-674.

Bose R, Ioannidis K, Foschi F, Bakhsh A, Kelly RD, Deb S, Mannocci F, Niazi SA. Antimicrobial Effectiveness of Calcium Silicate Sealers against a Nutrient-Stressed Multispecies Biofilm. *J Clin Med*. 2020 Aug 24;9(9):2722.

Budiraharjo R, Neoh KG, Kang ET, Kishen A. Bioactivity of novel carboxymethyl chitosan scaffold incorporating MTA in a tooth model. *Int Endod J*. 2010 Oct;43(10):930-9.

Camilleri J, Montesin FE, Di Silvio L, Pitt Ford TR. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J*. 2005 Nov;38(11):834-42.

Camilleri J, Montesin FE, Di Silvio L, Pitt Ford TR. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J*. 2005 Nov;38(11):834-42.

Camilleri J. Will bioceramics be the future root canal filling materials? *Curr Oral Health Rep* 2017;4:228-38.

Candeiro GT, Correia FC, Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2012 Jun;38(6):842-5.

Carvalho-Junior JR, Correr-Sobrinho L, Correr AB, Sinhoreti MA, Consani S, Sousa-Neto MD. Solubility and dimensional change after setting of root canal sealers: a proposal for smaller dimensions of test samples. *J Endod*. 2007 Sep;33(9):1110-6.

Cassiano FB, Soares DG, Bordini EAF, Anovazzi G, Hebling J, Costa CAS. Simvastatin-Enriched Macro-Porous Chitosan-Calcium-Aluminate Scaffold for Mineralized Tissue Regeneration. *Braz Dent J*. 2020 Sep 4;31(4):385-391.

Chen B, Haapasalo M, Mobuchon C, Li X, Ma J, Shen Y. Cytotoxicity and the Effect of Temperature on Physical Properties and Chemical Composition of a New Calcium Silicate-based Root Canal Sealer. *J Endod*. 2020 Apr;46(4):531-538.

Chin IBI, Yenn TW, Ring LC, Lazim Y, Tan WN, Rashid SA, Yuan CS, Yet ZR, Abdullah SZ, Taher MA. Phomopsidione-Loaded Chitosan Polyethylene Glycol (PEG)

Nanocomposite Dressing for Pressure Ulcers. *J Pharm Sci.* 2020 Sep;109(9):2884-2890.

Colombo M, Poggio C, Dagna A, Meravini MV, Riva P, Trovati F, Pietrocola G. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *J Clin Exp Dent.* 2018 Feb 1;10(2):e120-e126.

DaSilva L, Finer Y, Friedman S, Basrani B, Kishen A. Biofilm formation within the interface of bovine root dentin treated with conjugated chitosan and sealer containing chitosan nanoparticles. *J Endod.* 2013 Feb;39(2):249-53.

DaSilva L, Finer Y, Friedman S, Basrani B, Kishen A. Biofilm formation within the interface of bovine root dentin treated with conjugated chitosan and sealer containing chitosan nanoparticles. *J Endod.* 2013 Feb;39(2):249-53.

Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath AY, Medapati MR, Lai C, Cunha RS. Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: An In Vitro and In Situ Study. *J Endod.* 2017 Aug;43(8):1332-1336.

Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Shrestha A, Bramante CM. Antibacterial Properties Associated with Chitosan Nanoparticle Treatment on Root Dentin and 2 Types of Endodontic Sealers. *J Endod.* 2015 Aug;41(8):1353-8.

Donnermeyer D, Bürklein S, Dammaschke T, Schäfer E. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. *Odontology.* 2019 Oct;107(4):421-436.

Dragland IS, Wellendorf H, Kopperud H, Stenhagen I, Valen H. Investigation on the antimicrobial activity of chitosan-modified zinc oxide-eugenol cement. *Biomater Investig Dent.* 2019 Dec 12;6(1):99-106.

Ducret M, Montembault A, Josse J, Padeloup M, Celle A, Benchrih R, Mallein-Gerin F, Alliot-Licht B, David L, Farges JC. Design and characterization of a chitosan-enriched fibrin hydrogel for human dental pulp regeneration. *Dent Mater.* 2019 Apr;35(4):523-533.

Elshinawy MI, Al-Madboly LA, Ghoneim WM, El-Deeb NM. Synergistic Effect of Newly Introduced Root Canal Medicaments; Ozonated Olive Oil and Chitosan Nanoparticles, Against Persistent Endodontic Pathogens. *Front Microbiol.* 2018 Jul 3;9:1371.

Fakhri E, Eslami H, Maroufi P, Pakdel F, Taghizadeh S, Ganbarov K, Yousefi M, Tanomand A, Yousefi B, Mahmoudi S, Kafil HS. Chitosan biomaterials application in dentistry. *Int J Biol Macromol*. 2020 Nov 1;162:956-974.

Farhadian N, Godiny M, Moradi S, Hemati Azandaryani A, Shahlaei M. Chitosan/gelatin as a new nano-carrier system for calcium hydroxide delivery in endodontic applications: Development, characterization and process optimization. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018 Nov 1;92:540-546.

Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N, Diogenes A. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. *J Endod*. 2019 Jan;45(1):51-56.

Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod*. 2008 May;34(5):537-40.

Grossman LI. *Endodontic Practice*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1978.

Grossman LI. *Endodontic Practice*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1978.

Hashemi Doulabi A, Mirzadeh H, Imani M, Samadi N. Chitosan/polyethylene glycol fumarate blend film: physical and antibacterial properties. *Carbohydr Polym*. 2013 Jan 30;92(1):48-56.

Hu D, Ren Q, Li Z, Zhang L. Chitosan-Based Biomimetically Mineralized Composite Materials in Human Hard Tissue Repair. *Molecules*. 2020 Oct 19;25(20):4785.

Hussein H, Kishen A. Antibiofilm and Immune Response of Engineered Bioactive Nanoparticles for Endodontic Disinfection. *J Clin Med*. 2020 Mar 9;9(3):730.

Jaiswal N, Sinha DJ, Singh UP, Singh K, Jandial UA, Goel S. Evaluation of antibacterial efficacy of Chitosan, Chlorhexidine, Propolis and Sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilm : An in vitro study. *J Clin Exp Dent*. 2017 Sep 1;9(9):e1066-e1074.

Kamble AB, Abraham S, Kakde DD, Shashidhar C, Mehta DL. Scanning Electron Microscopic Evaluation of Efficacy of 17% Ethylenediaminetetraacetic Acid and Chitosan for Smear Layer Removal with Ultrasonics: An In vitro Study. *Contemp Clin Dent*. 2017 Oct-Dec;8(4):621-626.

Katakidis A, Sidiropoulos K, Koulaouzidou E, Gogos C, Economides N. Flow characteristics and alkalinity of novel bioceramic root canal sealers. *Restor Dent Endod*. 2020 Aug 18;45(4):e42.

Khalil I, Naaman A, Camilleri J. Properties of Tricalcium Silicate Sealers. *J Endod*. 2016 Oct;42(10):1529-35.

Kishen A, Shi Z, Shrestha A, Neoh KG. An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticulates for root canal disinfection. *J Endod*. 2008 Dec;34(12):1515-20.

Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int J Food Microbiol*. 2010 Nov 15;144(1):51-63.

Koosehgoel S, Ebrahimian-Hosseiniabadi M, Alizadeh M, Zamanian A. Preparation and characterization of in situ chitosan/polyethylene glycol fumarate/thymol hydrogel as an effective wound dressing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017 Oct 1;79:66-75.

Kumar MN, Muzzarelli RA, Muzzarelli C, Sashiwa H, Domb AJ. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem Rev*. 2004 Dec;104(12):6017-84.

Lim M, Jung C, Shin DH, Cho YB, Song M. Calcium silicate-based root canal sealers: a literature review. *Restor Dent Endod*. 2020 Jun 9;45(3):e35.

Lin LM, Skribner JE, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J Endod*. 1992 Dec;18(12):625-7.

Maharti ID, Suprastiwi E, Agusnar H, Herdianto N, Margono A. Characterization, Physical Properties, and Biocompatibility of Novel Tricalcium Silicate-Chitosan Endodontic Sealer. *Eur J Dent*. 2022 Sep 5.

Muxika A, Etxabide A, Uranga J, Guerrero P, de la Caba K. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *Int J Biol Macromol*. 2017 Dec;105(Pt 2):1358-1368.

Nunes BS, Rosendo RA, Filho AAO, Fook MVL, de Sousa WJB, Barbosa RC, Pina HV, da Silva Neto JE, Amoah SKS, Fontana CE, Bueno CEDS, De Martin AS. Chitosan-Based Biomaterial, Calcium Hydroxide and Chlorhexidine for Potential Use as Intracanal Medication. *Materials (Basel)*. 2021 Jan 20;14(3):488.

Ozlek E, Rath PP, Kishen A, Neelakantan P. A chitosan-based irrigant improves the dislocation resistance of a mineral trioxide aggregate-resin hybrid root canal sealer. *Clin Oral Investig*. 2020 Jan;24(1):151-156.

Palma PJ, Ramos JC, Martins JB, Diogenes A, Figueiredo MH, Ferreira P, Viegas C, Santos JM. Histologic Evaluation of Regenerative Endodontic Procedures with the Use of Chitosan Scaffolds in Immature Dog Teeth with Apical Periodontitis. *J Endod*. 2017 Aug;43(8):1279-1287.

Parolia A, Kumar H, Ramamurthy S, Davamani F, Pau A. Effectiveness of chitosan-propolis nanoparticle against *Enterococcus faecalis* biofilms in the root canal. *BMC Oral Health*. 2020 Nov 25;20(1):339.

Pereira IC, Duarte AS, Neto AS, Ferreira JMF. Chitosan and polyethylene glycol based membranes with antibacterial properties for tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Mar;96:606-615.

Roshdy NN, Kataia EM, Helmy NA. Assessment of antibacterial activity of 2.5% NaOCl, chitosan nano-particles against *Enterococcus faecalis* contaminating root canals with and without diode laser irradiation: an in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2019 Jan;77(1):39-43.

Sanz JL, López-García S, Lozano A, Pecci-Lloret MP, Llena C, Guerrero-Gironés J, Rodríguez-Lozano FJ, Forner L. Microstructural composition, ion release, and bioactive potential of new premixed calcium silicate-based endodontic sealers indicated for warm vertical compaction technique. *Clin Oral Investig*. 2021 Mar;25(3):1451-1462.

Sato TP, Rodrigues BVM, Mello DCR, Münchow EA, Ribeiro JS, Machado JPB, Vasconcellos LMR, Lobo AO, Bottino MC, Borges ALS. The role of nanohydroxyapatite on the morphological, physical, and biological properties of chitosan nanofibers. *Clin Oral Investig*. 2021 May;25(5):3095-3103.

Savitha A, SriRekha A, Vijay R, Ashwija, Champa C, Jaykumar T. An in vivo comparative evaluation of antimicrobial efficacy of chitosan, chlorhexidine gluconate gel and their combination as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis* in failed endodontic cases using real time polymerase chain reaction (qPCR). *Saudi Dent J*. 2019 Jul;31(3):360-366.

Schäfer E, Olthoff G. Effect of three different sealers on the sealing ability of both thermafil obturators and cold laterally compacted Gutta-Percha. *J Endod.* 2002 Sep;28(9):638-42.

Schilder H. Filling root canals in three dimensions. 1967. *J Endod.* 2006 Apr;32(4):281-90.

Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of BioRoot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J.* 2017 Dec;50 Suppl 2:e120-e136.

Silva PV, Guedes DF, Pécora JD, da Cruz-Filho AM. Time-dependent effects of chitosan on dentin structures. *Braz Dent J.* 2012;23(4):357-61.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008 Nov;34(11):1291-1301.e3.

Siqueira JF Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J.* 2001 Jan;34(1):1-10.

Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997 Sep;30(5):297-306.

Soares DG, Bordini EAF, Cassiano FB, Bronze-Uhle ES, Pacheco LE, Zabeo G, Hebling J, Lisboa-Filho PN, Bottino MC, de Souza Costa CA. Characterization of novel calcium hydroxide-mediated highly porous chitosan-calcium scaffolds for potential application in dentin tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2020 Aug;108(6):2546-2559.

Soares DG, Rosseto HL, Scheffel DS, Basso FG, Huck C, Hebling J, de Souza Costa CA. Odontogenic differentiation potential of human dental pulp cells cultured on a calcium-aluminate enriched chitosan-collagen scaffold. *Clin Oral Investig.* 2017 Dec;21(9):2827-2839.

Soares DG, Rosseto HL, Scheffel DS, Basso FG, Huck C, Hebling J, de Souza Costa CA. Odontogenic differentiation potential of human dental pulp cells cultured on a calcium-aluminate enriched chitosan-collagen scaffold. *Clin Oral Investig.* 2017 Dec;21(9):2827-2839.

Supotngarmkul A, Panichuttra A, Ratisoontorn C, Nawachinda M, Matangkasombut O. Antibacterial property of chitosan against *E. faecalis* standard strain and clinical isolates. *Dent Mater J*. 2020 Jun 5;39(3):456-463.

Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, de Almeida M, Navarro LG, Steier L, Guerreiro-Tanomaru JM. Physicochemical Properties and Volumetric Change of Silicone/Bioactive Glass and Calcium Silicate-based Endodontic Sealers. *J Endod*. 2017 Dec;43(12):2097-2101.

Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, de Almeida M, Navarro LG, Steier L, Guerreiro-Tanomaru JM. Physicochemical Properties and Volumetric Change of Silicone/Bioactive Glass and Calcium Silicate-based Endodontic Sealers. *J Endod*. 2017 Dec;43(12):2097-2101.

Tarsi R, Muzzarelli RA, Guzmán CA, Pruzzo C. Inhibition of *Streptococcus mutans* adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight chitosans. *J Dent Res*. 1997 Feb;76(2):665-72.

Torabinejad M, White DJ, inventors. Tooth filling material and method of use. US patent 5.415.547. May 16, 1995.

Torres FFE, Zordan-Bronzel CL, Guerreiro-Tanomaru JM, Chávez-Andrade GM, Pinto JC, Tanomaru-Filho M. Effect of immersion in distilled water or phosphate-buffered saline on the solubility, volumetric change and presence of voids within new calcium silicate-based root canal sealers. *Int Endod J*. 2020 Mar;53(3):385-391.

Vieira AR, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Lopes WS. Dentinal tubule infection as the cause of recurrent disease and late endodontic treatment failure: a case report. *J Endod*. 2012 Feb;38(2):250-4.

Wei W, Ma Y, Yao X, Zhou W, Wang X, Li C, Lin J, He Q, Leptihn S, Ouyang H. Advanced hydrogels for the repair of cartilage defects and regeneration. *Bioact Mater*. 2020 Oct 10;6(4):998-1011.

Wu S, Zhou Y, Yu Y, Zhou X, Du W, Wan M, Fan Y, Zhou X, Xu X, Zheng L. Evaluation of Chitosan Hydrogel for Sustained Delivery of VEGF for Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Stem Cells. *Stem Cells Int*. 2019 Dec 19;2019:1515040.

Zaki DY, Zaazou MH, Khallaf ME, Hamdy TM. In Vivo Comparative Evaluation of Periapical Healing in Response to a Calcium Silicate and Calcium Hydroxide Based Endodontic Sealers. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018 Aug 15;6(8):1475-1479.

Zhang C, Hui D, Du C, Sun H, Peng W, Pu X, Li Z, Sun J, Zhou C. Preparation and application of chitosan biomaterials in dentistry. *Int J Biol Macromol*. 2021 Jan 15;167:1198-1210.

Zhou H, Li Q, Wei L, Huang S, Zhao S. A comparative scanning electron microscopy evaluation of smear layer removal with chitosan and MTAD. *Niger J Clin Pract*. 2018 Jan;21(1):76-80.

Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod*. 2013 Oct;39(10):1281-6.

Zhou Y, Hou D, Geng G, Feng P, Yu J, Jiang J. Insights into the interfacial strengthening mechanisms of calcium-silicate-hydrate/polymer nanocomposites. *Phys Chem Chem Phys*. 2018 Mar 28;20(12):8247-8266.

Zordan-Bronzel CL, Esteves Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chávez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of Physicochemical Properties of a New Calcium Silicate-based Sealer, Bio-C Sealer. *J Endod*. 2019 Oct;45(10):1248-1252.

Zoufan K, Jiang J, Komabayashi T, Wang YH, Safavi KE, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of Gutta Flow and Endo Sequence BC sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011 Nov;112(5):657-61.

## ANEXOS

## ANEXO 1 - Verificação de originalidade e prevenção de plágio

## Avaliação das propriedades físico-químicas de um cimento experimental à base de silicato de cálcio com biopolímero de quitosana

### RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE



### FONTES PRIMÁRIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.unesp.br</b> Fonte da Internet	<b>2%</b>
<b>2</b>	<b>"Propriedades físico-químicas e biológicas de cimento experimental à base de Portland associado a diferentes radiopacificadores", 'Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA)'</b> Fonte da Internet	<b>2%</b>
<b>3</b>	<b>Submitted to Universidade Estadual de Campinas</b> Documento do Aluno	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>docplayer.com.br</b> Fonte da Internet	<b>2%</b>
<b>5</b>	<b>repositorio.unicamp.br</b> Fonte da Internet	<b>2%</b>
<b>6</b>	<b>idoc.pub</b> Fonte da Internet	<b>1%</b>

## ANEXO 2 – Iniciação científica



FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

C.N.P.J.: 43.828.151/0001-45

### DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que **HEITOR MURILLO CARNIO**, C.P.F. 445.521.618-90, é bolsista da FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO, C.N.P.J. 43.828.151/0001-45, em regime de dedicação exclusiva, na categoria de Bolsa no País - Regular - Iniciação Científica, sob a supervisão do(a) Prof(a). Dr(a). **MARINA ANGELICA MARCIANO DÁ SILVA** para o desenvolvimento de projeto de pesquisa no(a) **FAC ODONTOLOGIA PIRACICABA/UNICAMP** no período de 01/12/2021 a 30/11/2022.

As informações básicas desta declaração constam do Processo FAPESP 2021/08232-4, e a bolsa tem o valor mensal de R\$ 800,10.

As bolsas de pesquisa outorgadas pela FAPESP caracterizam-se como doação, sendo isentas do Imposto de Renda, não correspondem a qualquer espécie de relação de emprego, eis que não configuram contrato de trabalho e, em consequência, não objetivam pagamento de salários.

**Flávio Cardoso da Silva**  
Assessor

---

**Flávio Cardoso da Silva**  
Analista Administrativo  
Gerência de Autuação e Contratação

## ANEXO 3 – Banca examinadora

Anexo 2  
Indicação de banca examinadora

Segue abaixo, a indicação de nomes para compor a banca examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “Avaliação das propriedades físico-químicas de um cimento experimental à base de silicato de cálcio com biogelínico de Biotosana” elaborado pelo aluno(a) Heitor Murillo Carrijo, RA 217654.

Examinador 1

Nome: Ana Cristina Padilha Janini

Ciente. De acordo: [Assinatura]  
(assinatura)

Examinador 2

Nome: Luís Tullio

Ciente. De acordo: [Assinatura]  
(assinatura)

Ciente. De acordo: \_\_\_\_\_

[Assinatura]  
(nome e assinatura do orientador)

Marine Angélica Manciano da Silva