



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

PEDRO HENRIQUE FERNANDES NEVES

***Avaliação da microinfiltração de um novo material bioativo  
para restauração de dentes posteriores***

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA DE DENTISTERIA OPERATÓRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF. DOUTORA ANABELA BAPTISTA PEREIRA PAULA

PROF. DOUTORA ANA SALOMÉ DOS SANTOS PIRES LOURENÇO

JUNHO/2022



**Avaliação da microinfiltração de um novo material bioativo  
para restauração de dentes posteriores**

Artigo científico original

Pedro Henrique Fernandes Neves<sup>1</sup>; Anabela Baptista Pereira Paula, DDS, MSc,  
PhD<sup>1,3,4,5</sup>; Ana Salomé dos Santos Pires Lourenço, PhD<sup>2,3,4,5</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Clínica Integrada, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra

<sup>2</sup> Instituto de Biofísica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra

<sup>3</sup> Instituto de Investigação Clínica e Biomédica (iCBR) área de Ambiente Genética e Oncobiologia (CIMAGO), Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra

<sup>4</sup> Centro Académico Clínico de Coimbra (CACC), 3000-354 Coimbra, Portugal

<sup>5</sup> Centro de Biomedicina e Biotecnologia Inovadora (CIBB), 3000-354 Coimbra, Portugal

Autor: Pedro Henrique Fernandes Neves

Endereço de correio eletrónico: pedro.neves98@outlook.com

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Polo III, Ciências da Saúde

Azinhaga de Santa Comba, Celas

Portugal

# Índice

<i>Índice</i> .....	4
<i>Resumo</i> .....	5
<i>Abstract</i> .....	6
<i>Lista de abreviaturas</i> .....	7
<i>Introdução</i> .....	8
<i>Materiais e Métodos</i> .....	12
<i>Resultados</i> .....	16
<i>Discussão</i> .....	18
<i>Conclusão</i> .....	23
<i>Agradecimentos</i> .....	24
<i>Referências</i> .....	25

## Resumo

As resinas compostas bioativas híbridas, combinam os benefícios dos cimentos ionómeros de vidro com as resinas compostas. A sua auto-adesividade é alcançada através de ácidos funcionais poliacrílicos e grupos carboxílicos, hibridizando a *smear layer* e estabelecendo interações iônicas entre o cálcio da dentina. Estes materiais são definidos como tendo boa estética, tolerância à humidade, durabilidade, simplicidade na técnica e na manipulação, mantendo uma baixa taxa de microfiltração, enquanto libertam cálcio, fosfato e flúor.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a microinfiltração em restaurações que utilizavam a resina bioativa *Surefill One*<sup>TM</sup>. A hipótese nula é que este tipo de resina não obtenha menor taxa de microinfiltração quando comparada com outros materiais.

Foi realizado um estudo *in vitro* utilizando trinta e seis pré-molares e molares humanos íntegros. Foram assim realizadas preparações idênticas em todos eles (Classe V com 4 mm mesio-distal, 3 mm ocluso-gengival e 3 mm de profundidade) e divididos pelos diferentes grupos experimentais: 1 controlo positivo, 1 controlo negativo e 2 testes com resina composta bioativa e resina composta convencional (*Surefill One*<sup>TM</sup> e *Spectra*<sup>TM</sup> *ST HV*, respetivamente). Através de técnicas quantitativas com recurso a Medicina Nuclear foi possível avaliar a microinfiltração através da utilização de um isótopo radioativo, o tecnécio. A radioatividade emitida pelos espécimes foi detetada por uma câmara gama.

Os resultados do estudo experimental apontam para diferenças estatisticamente significativas entre os grupos teste, com aumento da microinfiltração no grupo de resina composta bioativa.

Com base no presente estudo de microinfiltração, foi possível concluir que a resina composta bioativa (*Surefill One*<sup>TM</sup>) não reduz a taxa de microinfiltração quando comparada a uma resina composta nanohíbrida convencional (*Spectra*<sup>TM</sup> *ST HV*). O desempenho do *Surefill One*<sup>TM</sup> deve ser avaliado com recurso a estudos *in vitro* de maior amostra e estudos clínicos de longo prazo.

**Palavras-chave:** dentisteria operatória; resina bioativa; resinas compostas; microinfiltração; radioisótopos

## Abstract

Hybrid bioactive composite resins combine the benefits of glass ionomer cements with composite resins. Its self-adhesiveness is achieved through functional polyacrylic acids and carboxylic groups, hybridizing the smear layer and establishing ionic interactions between calcium and dentin. These materials are defined as having good aesthetics, moisture tolerance, durability, simplicity in technique and handling, maintaining a low microfiltration rate, while releasing calcium, phosphate and fluorine.

The aim of the present study was to evaluate microleakage in restorations using Surefill One™ bioactive resin. The null hypothesis is that this type of resin does not obtain a lower microleakage rate when compared to other materials.

An *in vitro* study was carried out using thirty-six intact premolars and molars. Identical preparations were thus performed in all of them (Class V with 4 mm mesio-distal, 3 mm occluso-gingival and 3 mm in depth) and divided into different experimental groups: 1 positive control, 1 negative control and 2 tests with bioactive composite resin and conventional composite resin (Surefill One™ and Spectra™ ST HV, respectively). Through quantitative techniques using Nuclear Medicine, it was possible to evaluate microleakage through the use of a radioactive isotope, technetium. Radioactivity emitted by the specimens was detected by a gamma camera.

The results of the experimental study point to statistically significant differences between the test groups, with increased microleakage in the bioactive composite resin group.

Based on the present microleakage study, it was possible to wrap up that the bioactive composite resin (Surefill One™) does not reduce the microleakage rate when compared to a conventional nanohybrid composite resin (Spectra™ ST HV). Surefill One™ performance should be evaluated with larger sample through *in vitro* studies and long-term clinical studies.

**Keywords:** operative dentistry; bioactive resin; composite resins; microleakage; radioisotopes

## Lista de abreviaturas

BADEP – *N,N'-diethyl-1,3-bisacrylamido-propan*

CIV – Cimento ionómero de vidro

CPM – Contagens por minuto

DP – Desvio padrão

EUA – Estados Unidos da América

FAS – Fluoro-alumino-silicatos

HEMA – Hidroxietil-metacrilato

HV-GIC – *High viscosity glass ionomer cement*

MOPOS – *Modified Polyacid System*

RM-GIC – *Resin modified glass ionomer cements*

ROI – *Region of interest*

TEGDMA – Trietilenoglicol dimetacrilato

## Introdução

As resinas compostas são utilizadas clinicamente há aproximadamente meio século, sendo que a evolução deste tipo de materiais foi amplamente motivada pelas lacunas que apresentavam na prática clínica. As primeiras duas décadas foram dedicadas ao desenvolvimento de resinas compostas com melhores propriedades mecânicas e de polimento. (1) Seguidamente o foco tornou-se a produção de resinas com menos contração de polimerização como forma de reduzir a sensibilidade pós-operatória, a deflexão cuspídea, a formação de *gaps* e de aumentar a durabilidade destes materiais. (1,2) As resinas atingiram um grau desenvolvimento que lhes permitiu excelentes características a nível estético (2,3), ótico, resistência ao desgaste, radiopacidade, biocompatibilidade, adesão ao tecido dentário, manuseamento e polimento.(3)

As novas tendências na medicina dentária estão voltadas para os procedimentos não invasivos e minimamente invasivos (4), fazendo com que as restaurações adesivas continuem a dominar e evoluir no mercado. Estas restaurações permitem uma abordagem mais conservadora na remoção da cárie e preparação da cavidade.(3–5) O sucesso clínico destas restaurações está, assim, interdependente de fatores como a força de adesão ao tecido dentário (protocolo adesivo), a experiência do operador, a higiene oral do doente (1,5), a estética, a sensibilidade pós-operatória, o fator C (contração de polimerização), a adaptação da restauração às margens da preparação, a sensibilidade da técnica utilizada e a microinfiltração.

Apesar de toda a evolução, ainda é impossível obter uma adaptação da restauração totalmente livre de *gaps*, favorecendo a ocorrência de microinfiltração e conseqüente falha da restauração, quer por cárie secundária quer por irritação pulpar.(5) Deste modo, as resinas compostas apresentam como principais desvantagens a maior aderência de biofilme microbiológico quando comparadas a outros materiais restauradores (2); a microinfiltração resultante de *microgaps* (2,5); a citotoxicidade, especialmente em cavidades muito profundas onde o contacto com o tecido pulpar é intenso.(5)

A microinfiltração pode ser definida como a passagem clínica indetetável de bactérias, fluídos, moléculas e iões entre a parede da cavidade e o material restaurador.(3,6) Pode ser medida com recurso à Medicina Nuclear, através da deteção de radiação emitida pelos isótopos radioativos. (3) A microinfiltração é considerada um dos fatores mais preponderantes na longevidade das restaurações, de tal forma que o selamento marginal deve ser um dos principais objetivos do clínico. (3,5) O desempenho das resinas compostas dependerá



maioritariamente da técnica adesiva e controlo de humidade, através do uso de isolamento. (4,7) Alguns estudos revelaram limitações da sua utilização, nomeadamente em classes II e restaurações extensas de dentes posteriores, onde a probabilidade de fraturas, pigmentação e desadaptação marginal revelou ser maior. (8,9)

Os cimentos ionómero de vidro (CIV) são o material auto-adesivo mais utilizado em restaurações diretas. (10,11) A sua adesão química à estrutura dentária é feita através dos grupos carboxílicos (-COOH) presentes no seu componente ácido que estabelecem ligações químicas com o cálcio da hidroxiapatite. (1,12) Esta adesão é responsável por promover um bom selamento marginal, reduzida microinfiltração, mas não é considerada suficientemente forte para reter o material na cavidade. (1,10,13) Podem dispensar protocolo de isolamento visto serem menos sensíveis à humidade e condicionamento ácido. (3,10,13) Os estudos referem poucos casos de sensibilidade pós-operatória e uma baixa citotoxicidade para o complexo dentino-pulpar. (14–16) Os CIV para além da auto-adesividade, apresentam ainda bioatividade com a libertação de iões flúor, alumínio e cálcio provenientes dos fluoro-alumino-silicatos (FAS) contidos na sua composição, induzindo remineralização tecidual dentária e efeito cariostático. (10,12) A sua reação ácido-base de mistura permite que estes materiais tenham uma aplicação *bulk-fill*, isto é, em camada única. (12) No entanto, apresentam piores propriedades mecânicas, estéticas, de polimento e força de adesão quando comparados com as resinas. (3,4,7,10)

Os CIV foram posteriormente modificados, em busca de melhores propriedades mecânicas e biológicas, à semelhança do ocorrido com a evolução das resinas compostas. Em síntese o seu desenvolvimento originou 2 tipos de CIV, ou a formulação destes materiais foi aprimorada, ficando isenta de resina e designando-se por cimentos de ionómero de vidro de alta viscosidade (HV-GICs do inglês *high viscosity glass ionomer cement*); ou estes materiais foram modificados com um conteúdo resinoso adicional (HEMA, hidroxietilmetacrilato), obtendo a designação de cimentos ionómero de vidro modificados por resina (RM-GICs do inglês *resin modified glass ionomer cements*). (10–12)

O esmalte e a dentina, são substratos polares e hidrofílicos constituídos por hidroxiapatite (esmalte e dentina) e colagénio (dentina), sendo necessárias várias propriedades químicas por parte dos materiais para gerar adesão a estes substratos. As resinas convencionais são tipicamente materiais hidrofóbicos, porém a interação com substratos hidrofílicos, como a dentina e esmalte, requer simultaneamente uma química hidrofílica, garantindo o humedecimento e adesão a estas superfícies. Para alcançar estas propriedades hidrofílicas são usados grupos ácidos, tais como ácidos carboxílicos, fosfóricos

ou sulfônicos. Como já referido, os materiais restauradores recorrem majoritariamente aos ácidos carboxílicos. É importante salientar que, além da polaridade, um material restaurador auto-condicionante e auto-adesivo necessita de condicionar o esmalte, criando um determinado nível de microrrugosidade, de forma a assegurar adesão por interação micromecânica. (2,7,13,17–19)

Assim, a presença de funções ácidas e água são os requisitos mínimos para alcançar a adesão ao esmalte e dentina. Os cimentos ionómeros de vidro (CIV) e ionómeros de vidro modificados por resina (RM-GICs) resina cumprem estes requisitos. (7,12) No entanto, os CIV convencionais não são indicados para restaurações definitivas devido à sua forte tendência à abrasão, fratura e descolamento. (20) Os RM-GICs possuem melhor adesão e características de flexão (21), mas ainda têm baixa resistência à abrasão e devem ser aplicados de acordo com as instruções do fabricante em restaurações provisórias de dentes definitivos ou restaurações definitivas de dentes decíduos. (19)

O ideal seria combinar as características de ambos os materiais dentários descritos acima obtendo, assim, um único com boa estética, boas propriedades mecânicas, tolerante à humidade, auto-adesivo, durável, com aplicação técnica e manipulação simples, e com baixa microfiltração. Surgem, desta forma, as resinas bioativas como o *Surefill One™* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany), um compósito híbrido *bulk-fill*, auto-adesivo (esmalte e dentina), de polimerização *dual* e com libertação iónica de fluoretos. A redução dos passos clínicos e do tempo de cadeira deve-se ao facto de, independentemente da cavidade, não ser necessária uma estratificação do material (*bulk-fill*), nem protocolo adesivo específico. (1,4,7,10) O uso deste *smart material* visa a simplificação da técnica, tornando-a menos sensível, menos subjetiva a erros e mais rápida. Este material bioativo difere dos CIV na sua composição química (10,12,22), e pode ser uma alternativa com desempenho superior. (19)

Estes materiais obtêm uma enorme relevância clínica em odontopediatria, onde a colaboração e o tempo de ação para resolução de problemas se encontram reduzidos. (1,4,7,10,19) O *Surefill One™* é fornecido numa cápsula de mistura líquido/pó pré-doseada, com uma quantidade mínima de 0,3 gramas. O pó é constituído por vidro silanizado de alumínio-fósforo-estrôncio-sódio-fluor-silicato, dióxido de silício disperso, fluoreto de itérbio e pigmentos. A fase líquida contém ácido acrílico, ácido policarboxílico, acrilato bifuncional, iniciador (auto-polimerizável), canforquinona e estabilizador. Está indicado para lesões de cárie do tipo classe I a V, aplicado de forma direta intraoral com auxílio do dispositivo *Capsule Extruder 2* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany). (7,10)

Esta nova resina bioativa proporciona aos clínicos a utilização de um material capaz de rivalizar o desempenho das resinas compostas com as qualidades biológicas e de manipulação dos CIV (2,7,10), colmatando as duas grandes desvantagens das resinas, citotoxicidade e microinfiltração. Vários estudos *in vitro* e *in vivo* comprovam que este tipo de materiais antibacterianos e remineralizantes possuem menor citotoxicidade, com uma boa biocompatibilidade face ao complexo dentinopulpar, desejável em cavidades mais profundas. (2,14,23,24) No entanto, não foram encontrados estudos relativos à microinfiltração.

O objetivo do presente estudo será avaliar a microinfiltração em restaurações dentárias, utilizando a resina bioativa *Surefill One™* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany). A hipótese nula é que este tipo de resina não obtenha menor taxa de microinfiltração quando comparada com outras resinas compostas convencionais. Pretende-se contribuir, desta forma, para uma melhor solidificação do conhecimento científico referente a esta temática.

## Materiais e Métodos

Este estudo foi submetido à Comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, e obteve aprovação com o número CE-086/2019.

Para avaliar objetivamente a microinfiltração recorreremos à Medicina Nuclear através da utilização de isótopos radioativos. O tecnécio é um elemento artificial, obtido pelo decaimento radioativo do molibdénio que, por sua vez, é um elemento metálico radioativo pertencente aos metais de transição com raio atómico de 135,8 pm. O tecnécio ocupa a posição 43 da tabela periódica, sendo o elemento radioativo com o menor número atómico. Apresenta um tempo de meia-vida de 6,04 horas e o seu decaimento ocorre pela transição isomérica com emissão de radiação gama de 140,5 keV. (25)

Trinta e seis molares ou pré-molares humanos íntegros (extraídos sem cárie) foram curetados manualmente e armazenados numa solução salina normal 0,9% a 5°C, não mais de 4 meses após extração. Posteriormente, cavidades classe V foram preparadas na face vestibular de cada dente. Um molde de resina transparente foi realizado para projetar as cavidades em cada superfície do dente. Cada cavidade tinha as seguintes dimensões: 4 mm mesio-distal, 3 mm ocluso-gengival e 3 mm de profundidade. Um ângulo de linha interna de 90 graus foi mantido de forma a criar paredes de margens oclusais e gengivais de aproximadamente 3 mm. Todas as margens terminaram em esmalte.

As brocas *Carbide FG C21-314-010-4.4* (Coltène, 9450, Altstätten, Suíça, LOT C19102) foram utilizadas na preparação cavitária, e foram substituídas a cada 5 preparações. Os espécimes preparados foram divididos aleatoriamente em cada grupo. Vinte e seis espécimes foram utilizados para os grupos de estudos e dez espécimes para os grupos de controlo, cinco para os grupos de controlo positivo e cinco para o grupo de controlo negativo.

O desenho experimental definido é descrito em seguida e está ilustrado na Figura 1.

### **Grupos Teste** – grupos 1 e 2

**Grupo 1:** *Surefill One™* (Dentsply-Sirona, 78467, Konstanz, Alemanha, LOT 2106000297/ 2106000948) foi utilizado para restaurar a classe V de 13 espécimes. O procedimento foi realizado de acordo com as instruções recomendadas pelo fabricante. A cápsula foi ativada e imediatamente colocada num misturador de cápsulas (4200-4600 osc/min) durante 10 segundos. De seguida, com auxílio do *Capsule Extruder 2* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany) o material foi dispensado na parte mais profunda da cavidade de forma

única, sem nunca remover a ponta de aplicação do material. Foi aplicado em excesso e espalhado na direção das margens durante o tempo de trabalho (90 seg.). A camada superficial foi fotopolimerizada com recurso ao *Bluephase® Style* (Ivoclar Vivadent, 5VDC, Liechtenstein, Áustria) por 20 segundos. As restaurações foram polidas com o sistema de borrachas *Enhance®* e *Enhance®PoGo®* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany, LOT 00026514/ 00017898).

**Grupo 2:** *Spectra™ ST HV nanohybrid composite* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany, LOT 1136) foi utilizado para restaurar as cavidades classe V de 13 espécimes. O esmalte foi condicionado seletivamente por 30 segundos com gel de ácido ortofosfórico a 37% (3M ESPE, N301289, St. Paul, MN, EUA, LOT 643417). De seguida foi lavado com jato de ar/água por 20 segundos, procedido de secagem ligeira com jato de ar. Seguiu-se a aplicação de um sistema adesivo universal, *Prime & Bond Active™* (Dentsply-Sirona, Konstanz Germany, LOT1908001303) aplicado de acordo com as instruções do fabricante. O solvente foi evaporado com fluxo de ar suave antes de ser fotopolimerizado por 20 segundos com o *Bluephase® Style* (Ivoclar Vivadent, 5VDC, Liechtenstein, Áustria). A resina nanohíbrida foi colocada em incrementos de 2 mm e fotopolimerizada por 20 segundos com recurso ao *Bluephase® Style* (Ivoclar Vivadent, 5VDC, Liechtenstein, Áustria). As restaurações foram polidas com recurso ao mesmo sistema de borrachas do grupo anterior.

### **Grupo de Controlo Negativo**

**Grupo 3:** *Spectra™ ST HV nanohybrid composite* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany, LOT 1136) foi utilizado para restaurar as cavidades classe V de 5 espécimes. O esmalte foi condicionado da mesma forma descrita para o grupo 2. Seguiu-se a aplicação de um sistema adesivo universal, *Prime & Bond Active™* (Dentsply-Sirona, Konstanz, Germany, LOT1908001303) utilizado de acordo com o protocolo descrito para o grupo 2. A resina nanohíbrida composta foi colocada em incrementos de 2 mm e fotopolimerizada por 20 segundos com recurso ao *Bluephase® Style* (Ivoclar Vivadent, 5VDC, Liechtenstein, Áustria). As restaurações foram polidas com recurso ao mesmo sistema de borrachas já referido. Estes espécimes foram posteriormente revestidos com verniz na totalidade da superfície.

### **Grupo de Controlo Positivo**

**Grupo 4:** As cavidades classe V de 5 espécimes não sofreram qualquer intervenção, isto é, não foram restauradas.

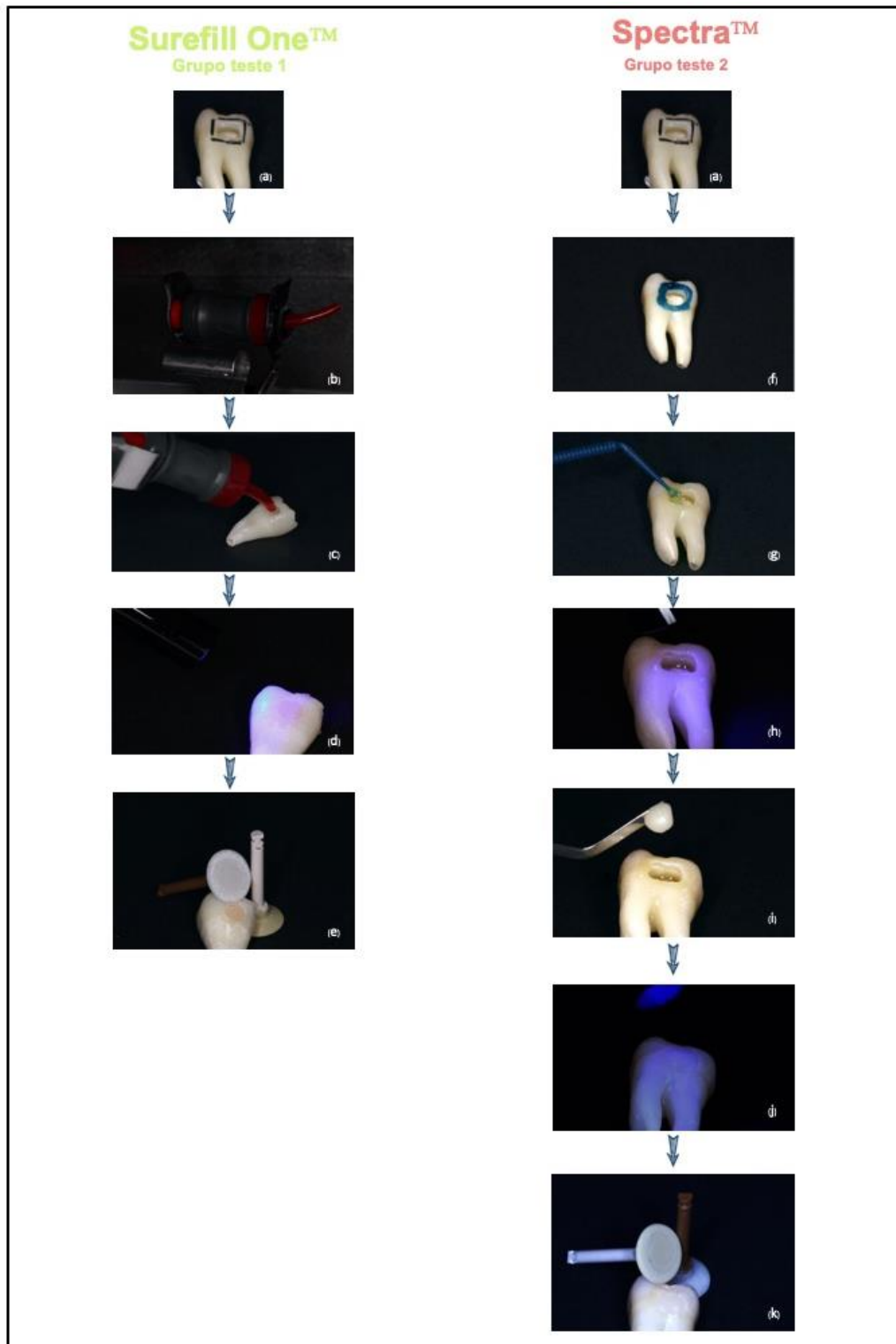


Figura 1. Representação esquemática dos passos chave do processo restaurador realizado nos grupos teste, através de registo fotográfico: (a) cavidade classe V; (b) ativação e vibração da cápsula (10 seg.); (c) aplicação do material, com Capsule Extruder 2 (tempo de trabalho – 90 seg.); (d) polimerização da camada superficial; (e) polimento da restauração; (f) condicionamento seletivo do esmalte (ácido ortofosfórico a 37% - 30 seg.); (g) aplicação do sistema adesivo universal (Prime & Bond Active™); (h): polimerização do adesivo (20 seg.); (i) aplicação da resina composta; (j) polimerização da resina composta; (k) polimento da restauração.

Apenas um operador realizou todos os procedimentos de preparação cavitária e restauradores. Os espécimes dos grupos 1, 2 e 4 foram todos revestidos com duas camadas de verniz (Cliché, 1100-063, Lisboa, Portugal, LOT IJ257) até à margem de 2 mm ao redor das restaurações. Os espécimes do grupo 3 foram revestidos com o mesmo verniz na totalidade da sua superfície. Os espécimes de todos os grupos foram imersos numa solução de pertecnetato de sódio [ $^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$ ], com uma atividade volúmica de 8 mCi/ml, por 3 horas. De seguida, o verniz foi totalmente removido.

A radiação gama emitida pelos espécimes foi detetada por uma câmara gama (GE Millennium MG, Milwaukee, WI, EUA) controlada por um computador de aquisição (GenieAcq, GE, Milwaukee, WI, EUA). Para cada espécime, foi adquirida uma imagem estática durante dois minutos utilizando uma matriz de 512 × 512 e zoom de 1,33. As regiões de interesse (ROIs do inglês *region of interest*) em cada imagem foram desenhadas sobre cada espécime para obter as contagens totais (Xeleris<sup>TM</sup>, GE, Milwaukee, Wisconsin, EUA). As contagens totais obtidas em cada imagem foram utilizadas para quantificar a microinfiltração das restaurações.

A amostra foi caracterizada através da apresentação da média com desvio-padrão. A análise estatística foi realizada através do software IBM® SPSS® versão 27.0 (IBM Corporation, Armonk, Nova Iorque, EUA). As comparações entre grupos foram feitas com recurso a testes não paramétricos, após confirmação de distribuições quantitativas amostrais não normais. Este pressuposto foi avaliado pelo teste de *Shapiro-Wilk* e a homogeneidade de variâncias segundo o teste de *Levene*. Compararam-se os diferentes grupos usando o teste *Kruskal-Wallis* e para as comparações múltiplas o teste *Games-Howell*. Para todas as análises, considerou-se o nível de significância de 5%.

## Resultados

Após processamento das imagens e análise estatística obtiveram-se os valores médios  $\pm$  desvio-padrão (DP) das contagens totais dos respetivos grupos descritos na Tabela 1. As médias e desvios-padrão das contagens por minuto (CPM) das amostras são dadas na Figura 2.

Tabela 1. Contagens totais obtidas após os estudos de microinfiltração com  $^{99m}\text{Tc}$ . Valores em CPM (contagens por minuto).

Grupos	Contagens totais (Média $\pm$ DP)
<b>Grupo 1</b> (Surefill One™) (n=13)	3371 $\pm$ 1607
<b>Grupo 2</b> (Spectra™ ST HV) (n=13)	1286 $\pm$ 751
<b>Controlo Negativo</b> (n=5)	140 $\pm$ 13
<b>Controlo Positivo</b> (n=5)	4817 $\pm$ 2131

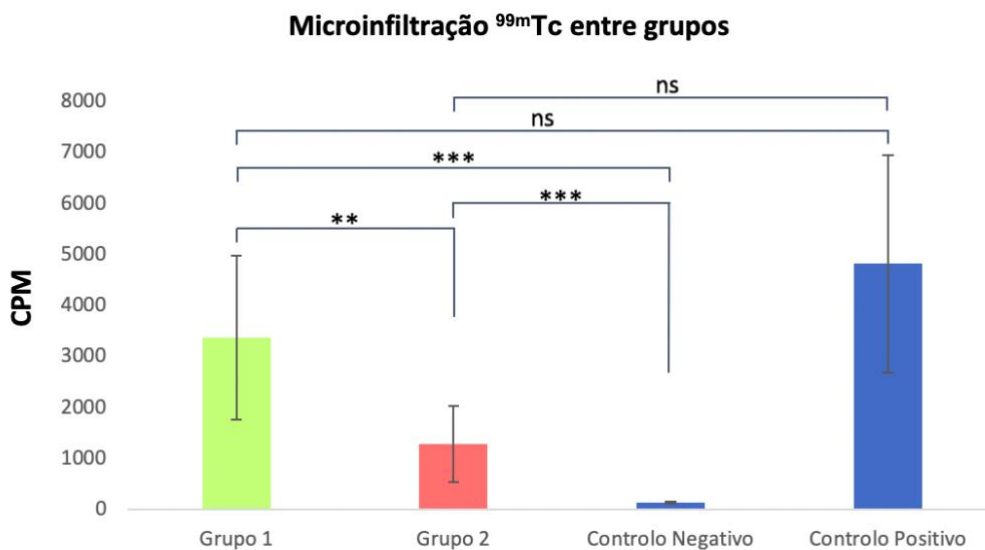


Figura 2. Representação das contagens totais em cada grupo após os estudos de microinfiltração com  $^{99m}\text{Tc}$ . Os dados estão representados como média  $\pm$  DP das CPM obtidas em cada grupo. As diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estão representadas por: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; ns – sem significado. Grupo 1: Surefill One™; Grupo 2: Spectra™ ST HV nanohybrid composite; CPM: contagens por minuto.



De acordo com a Figura 2 foi possível observar que o grupo controlo positivo apresentou os valores mais elevados seguido do grupo 1 (Surefill One™), grupo 2 (*Spectra™ ST HV nanohybrid composite*) e por fim controlo negativo. Quando comparado o controlo positivo com os grupos 1 e 2 não se verificaram diferenças com significado estatístico entre o controlo positivo e o grupo 1 ( $p = 0,553$ ) e entre o controlo positivo e grupo 2 ( $p = 0,064$ ), verificando-se que o controlo positivo tem um valor médio de contagens totais superior aos dois grupos de teste.

Relativamente à comparação entre o controlo negativo e os grupos 1 e 2 verificou-se que o grupo controlo negativo apresenta um valor médio de contagens totais estatisticamente inferior. A análise de dados revelou diferenças com significado estatístico relativamente ao grupo 1 ( $p < 0,001$ ) e relativamente ao grupo 2 ( $p < 0,001$ ).

Por último, quando comparados os valores de contagens totais dos grupos 1 e 2 verificou-se que o grupo 1 apresenta valores de infiltração estatisticamente superiores ao grupo 2 ( $p = 0,002$ ).

Nesta metodologia a maior infiltração de radioisótopos corresponde, de forma direta, aos maiores valores de contagens totais. Assim sendo, quanto maiores forem estes valores maior será a taxa de microinfiltração do isótopo associada à respetiva restauração/material.

Os achados chave deste estudo dizem respeito aos dois grupos experimentais, onde o grupo *Surefill One™* ( $3371 \pm 1607$ ) apresentou maior taxa de microinfiltração e diferenças com significado estatístico nas contagens totais ( $p < 0,01$ ) em comparação com o grupo *Spectra™ ST HV nanohybrid composite* ( $1286 \pm 751$ ).

Em relação ao grupo controlo positivo ( $4817 \pm 2131$ ), os grupos 1 e 2 não apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa nas contagens totais ( $p > 0,05$ ). Ao invés de quando comparados com o grupo controlo negativo ( $140 \pm 13$ ), os grupos 1 e 2 obtiveram valores superiores, sendo estas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,001$ ).

## Discussão

A microinfiltração na interface dente-restauração é considerada um fator preponderante relativamente à longevidade das restaurações dentárias. As consequências da microinfiltração podem ser diversas, como a pigmentação marginal, a rutura precoce das restaurações, a cárie secundária na interface dente-restauração, a sensibilidade pós-operatória e a patologia inflamatória do órgão pulpar. (8,26) A integridade da selagem marginal é, desta forma, essencial para aumentar a longevidade das restaurações. (3,27) A integridade e adaptação interna da restauração às paredes dentárias é comprometida quando ocorre microinfiltração, normalmente resultante da contração de polimerização do material restaurador. É, assim, considerada, entre outros fatores, como a causa mais comum de falha de restaurações diretas em dentes posteriores. (3,5,8)

O presente estudo foi desenhado para avaliar a capacidade de selamento marginal e consequente microinfiltração de diferentes estratégias/materiais restauradores, com recurso a isótopos radioativos. Foi utilizada uma resina composta convencional *Spectra™ ST HV nanohybrid composite* e uma resina bioativa *Surefill One™* em restaurações dentárias com cavidades padronizadas, utilizando o radioisótopo Tecnécio-99m [<sup>99m</sup>Tc].

A microinfiltração pode ser estudada através de outros métodos, como a utilização de corantes, penetração de glicose, infiltração de bactérias ou toxinas, microinfiltração de proteínas, microinfiltração eletroquímica ou microscopia eletrónica de varrimento. (28–30)

Os métodos mais comuns na avaliação da microinfiltração, em estudos recentes, são a infiltração com um corante e a infiltração bacteriana. No entanto, a penetração com o corante azul de metileno apresenta algumas limitações, como a necessidade de destruir as amostras, a avaliação subjetiva dos resultados por parte de um operador especializado e a natureza semiquantitativa da medição da microinfiltração. (31) A metodologia que utiliza a infiltração bacteriana, embora mais relevante clínica e biologicamente, quando comparada à penetração com corante, só pode ser aplicada em materiais que tenham atividade antimicrobiana para o tipo de bactéria utilizada e, normalmente apresenta uma avaliação de natureza qualitativa e não quantitativa. (29)

A utilização de isótopos radioativos constitui um método com carácter quantitativo e não destrutivo permitindo a medição da microinfiltração dos mesmos espécimes em intervalos diferentes, por longos períodos e sem a necessidade de destruir a amostra, contrastando com os dois métodos acima citados. (32) Também permite a medição quantitativa da

microinfiltração por minuto, detetada rapidamente, mesmo utilizando atividades muito reduzidas de radiofármaco, representando uma vantagem sobre o método de penetração com um corante. (33,34) O método adotado evidenciou valores médios de contagens totais estatisticamente mais baixos para o grupo controlo negativo e valores médios mais elevados no grupo controlo positivo, validando desta forma a metodologia selecionada.

O *Surefil One*<sup>TM</sup> tem como componente ácido o MOPOS (do inglês *Modified Polyacid System*), um poliácido modificado que, devido à sua estrutura e propriedades, permite novas formulações para materiais restauradores auto-adesivos. O MOPOS permite a adesão e condicionamento ácido da estrutura dentária. Contribui simultaneamente para a formação da rede de polímeros, aumentando a resistência mecânica do material, de acordo com o fabricante. (7,12) O fator diferenciador deste componente ácido é a sua capacidade de modificação hidroliticamente estável do polímero base poliácido com os grupos polimerizáveis. Normalmente, os poliácidos usados em resinas convencionais são modificados de maneira hidroliticamente não estável, com recurso ao HEMA (hidroxietil-metacrilato). Como esta ligação não é estável num ambiente aquoso ácido, maiores concentrações de HEMA são necessárias nas formulações, alterando o equilíbrio do meio para o nível necessário ao funcionamento do poliácido. Este monómero funcional, mesmo quando combinado com monómeros bifuncionais, como o TEGDMA (do inglês *triethylene glycol dimethacrylate*), tende a gerar uma fraca rede de polímeros, resultando em materiais com propriedades mecânicas mais restritas. No entanto, graças à conexão hidroliticamente estável do MOPOS com os grupos polimerizáveis, o uso de HEMA é dispensado da formulação da resina bioativa. Esta utiliza ainda o ácido acrílico que atua como diluente ativo, *primer* de dentina e condicionante ácido de esmalte e dentina, possibilitando a adesão a estes substratos. Sendo um monómero bifuncional contribui simultaneamente para a formação da rede polimérica covalente. O ácido acrílico confere, desta forma, resistência e adesão a este *smart material*. (1,7,12,16,19)

Um acrilato bifuncional, o BADEP (do inglês *N,N'-diethyl-1,3-bisacrylamido-propan*) também é utilizado de forma a alcançar as exigências químicas dos sistemas ácidos aquosos e mecânicas dos materiais restauradores. O BADEP é uma amida bis-acrílica hidroliticamente estável, de baixa viscosidade, que atua como molécula *cross-link* na formulação. Sendo um monómero não propenso à hidrólise catalisada por ácidos, é uma boa alternativa aos monómeros convencionais, como o TEGDMA, aumentando a eficiência da reação *cross-link*. (1,7,12,19,22)

A polimerização *dual* do Surefil One™ é obtida através de um sistema iniciador de quatro componentes: um fotoiniciador (canforquinona), um persulfato para *redox curing* e dois agentes redutores diferentes, necessários como co-iniciadores. Permitindo que, imediatamente após a fotopolimerização, possam ser realizados procedimentos de acabamento e polimento na superfície. (7,12) Durante a polimerização, uma densa rede é formada e a componente vítrea é fortemente integrada por dois mecanismos. Por um lado, integração na parte covalente da rede por copolimerização dos grupos metacrilatos adjacentes e, por outro lado, por interação com as partes iônicas da rede, conferindo resistência mecânica ao material. (5,7,10,35) O mecanismo de polimerização *dual* consegue melhorar a eficiência, a rapidez, as propriedades *bulk-fill* e a facilidade na utilização do *Surefill One*™ em procedimentos clínicos. Em áreas como a odontopediatria estas características aliadas a boas propriedades mecânicas, auto-adesividade e tolerância à humidade são fortemente desejadas. (1,4,12,22)

Vários estudos, realizados em materiais bioativos semelhantes, revelaram bons valores relativos da tenacidade à fratura, abrasão e capacidade de absorção de impacto. Concluiu-se que a composição dos monómeros, nomeadamente as características e tamanho das partículas de carga influenciam fortemente as propriedades físico-mecânicas destes novos materiais. Além disso, a fotopolimerização adicional melhora o grau de conversão, a resistência à flexão e a resistência à degradação por água. Verificou-se ainda que a presença de sistemas fotoiniciadores alternativos gera taxas máximas mais elevadas de polimerização. (36–38)

Todavia, inerente aos materiais, a contração de polimerização é um fenómeno muito complexo, dependente das condições das margens cavitárias devido à diferença de composição dos substratos dentários; da quantidade de material na reação de polimerização; e da formulação e mecanismo de presa do material utilizado. (3,39) A redução da contração de polimerização tem sido um dos focos no desenvolvimento de novos materiais. (8,40) No entanto, diferentes materiais restauradores têm diferentes formulações e, conseqüentemente, diferentes contrações de polimerização, o que torna a sua comparação complexa. (3,40)

O processo de contração ocorre essencialmente devido à conversão de monómeros numa rede de polímeros, substituindo as ligações de *van der Waals* por ligações mais fortes, covalentes. Este processo cria tensões de contração no material restaurador, desadaptação da margem, conduzindo a stress tensional interno na estrutura dentária circundante, e conseqüente microinfiltração. (8,41,42) A magnitude destas tensões depende de diversos fatores, como a configuração das cavidades, mas também do modo de fotopolimerização do

material. (3,36–38,40) Neste estudo todas cavidades apresentavam as mesmas dimensões, tendo o mesmo fator C (índice entre faces livres e aderidas).

Os valores mais elevados de microinfiltração observados no grupo 1 (*Surefill One™*) quando comparados com o grupo 2 (*Spectra™ ST HV*) sugerem que a nova resina bioativa possa apresentar maior contração de polimerização comparativamente a uma resina composta nanohíbrida convencional. Utilizou-se a polimerização *dual* para o *Surefill One™* (recomendada pelo fabricante) que, por si só, pode induzir uma maior tensão de contração de polimerização em cavidades com elevado fator C e um maior desafio para a adesão à dentina do fundo cavitário, quando comparada com técnicas auto-polimerizáveis. (19,36,43) Desta forma as resinas compostas conseguem um melhor controlo sobre a contração de polimerização, reduzindo *microgaps* e tensões associadas, e produzindo restaurações com menor microinfiltração e consequentemente maior longevidade.

No entanto, quando restauramos cavidades deste tipo devemos ter em atenção outros parâmetros como as propriedades mecânicas dos materiais e força de adesão à dentina. (10,44) A adesão do *Surefill One™* depende maioritariamente de ácidos funcionais poliacrílicos de elevado peso molecular, capazes de facilitar a hibridização da *smear layer* e interações iónicas entre o cálcio contido na dentina e os grupos carboxílicos do MOPOS, também relatados em RM-GICs. (10,12) Apesar de conter água na sua formulação, esta resina tipo *bulk-fill* híbrida auto-adesiva requer alguma humidade para ativar os ácidos funcionais. (12,45) Desta forma a dentina não deve ser totalmente desidratada. Porém, é muito mais difícil controlar o nível de humidade numa cavidade profunda e estreita do que numa superfície plana, dificultando a obtenção da dentina humedecida ideal. (13,18) Os fatores acima mencionados podem ajudar a justificar os valores estatisticamente mais elevados de microinfiltração do grupo 1 (*Surefill One™*) em comparação com o grupo 2 (*Spectra™ ST HV*).

Os grupos teste 1 e 2 quando comparados com o grupo controlo positivo não apresentaram valores estatisticamente diferentes. Em contraste, quando comparados com o grupo controlo negativo, este foi estatisticamente inferior aos grupos de teste. Desta análise podemos inferir que ambos os materiais restauradores em estudo estão longe do que se poderia considerar um material restaurador ideal, onde potencialmente se obteriam valores de microinfiltração perto de nulos.

A padronização das condições *in vitro* é um passo essencial para controlar possíveis fatores de viés, otimizar a análise estatística e permitir a reprodutibilidade do estudo. (28,46)

Como recomendado por diversos autores (47–50), os procedimentos restauradores foram realizados pelo mesmo operador, diminuindo o erro “humano” a este associado.

Contudo, não se tratando de um protocolo *in vivo* o processo restaurador acaba por não ser influenciado por vários fatores presentes na cavidade oral como contaminantes (saliva, sangue, etc.), humidade, qualidade de isolamento, acesso e localização da lesão. Complementarmente a estes fatores, as cavidades obtidas, após remoção das lesões, nunca seriam padronizadas e as restaurações estariam sujeitas a fadiga cíclica. Não foi realizado nenhum processo de *ageing*, ao contrário de alguns estudos, de forma a mimetizar os fatores anteriormente referidos. (3,17,51) Assim sendo, devemos ter em consideração as limitações inerentes ao presente estudo *in vitro* na hora da interpretação de resultados.

A técnica laboratorial mostrou-se simples, rápida e atendeu ao objetivo de um método quantitativo na avaliação da microinfiltração. O desempenho do *Surefill One*<sup>TM</sup> e resultados inerentes ao presente estudo devem ser fundamentados com um novo estudo, onde seriam utilizadas as mesmas amostras, desta vez com recurso à penetração de corante, comparando os dois métodos de avaliação de microinfiltração. Posteriormente, propõe-se a realização de um novo estudo *in vitro* com as mesmas amostras, com processo de termociclagem, de forma a avaliar a modificação dos resultados após o envelhecimento das amostras (*ageing*). Adicionalmente, seriam benéficos estudos clínicos de longo prazo, para a consolidação de resultados e da temática em estudo.

## Conclusão

Com base no presente estudo de microinfiltração, foi possível concluir que a nova resina composta bioativa (*Surefill One*<sup>TM</sup>) não reduz a taxa de microinfiltração quando comparada à resina composta nanohíbrida convencional (*Spectra*<sup>TM</sup> *ST HV*). No entanto, o *Surefill One*<sup>TM</sup> pode ser utilizado em restaurações provisórias, dentes decíduos e em casos de remineralização tecidual, evitando procedimentos mais evasivos. Esta nova resina composta bioativa do tipo *bulk-fill* constitui uma evolução face à antiga geração de materiais bioativos e uma mais valia em áreas como a odontopediatria.

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Anabela Baptista Paula, a minha orientadora, por ter aceite a realização deste estudo, dedicando toda a sua disponibilidade, e ainda, pela amabilidade, apoio, tempo e conselhos concedidos no decorrer do mesmo.

À Professora Doutora Ana Salomé Pires, a minha coorientadora, pelo apoio, diretrizes e correções que me permitiram desenvolver o presente estudo. Ainda à Professora Doutora Margarida Abrantes por toda a sua disponibilidade e auxílio, mostrou-se incansável.

À minha família, especialmente aos meus pais, irmão e madrinha, por toda a paciência, ensinamentos, afetos e incentivos permanentes que permitiram chegar ao final desta jornada. Sem o vosso apoio e valores transmitidos tal não seria possível.

À Catarina, por todo o seu constante apoio incondicional, ternura, preocupação e incentivo. Sempre acreditou e depositou grande confiança na minha pessoa, sendo para mim um genuíno porto seguro. Reconheço que o sucesso neste percurso se deve a ti.

Aos meus amigos de longa data e de curso, pelo companheirismo, apoio, palavras de incentivo e memórias criadas que levo para a vida. Por tudo isto sinto-me grato.



## Referências

1. Maas MS, Alania Y, Natale LC, Rodrigues MC, Watts DC, Braga RR. Trends in restorative composites research: what is in the future? *Braz Oral Res* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2021 Dec 28];31(suppl 1):23–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28902235/>
2. Zhang K, Zhang N, Weir MD, Reynolds MA, Bai Y, Xu HHK. Bioactive Dental Composites and Bonding Agents Having Remineralizing and Antibacterial Characteristics. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2021 Dec 28];61(4):669–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28886763/>
3. Carrilho E, Abrantes M, Paula A, Casalta-Lopes J, Botelho M, Ferreira M. Microleakage study of a restorative material via radioisotope methods. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*. 2014 Jul 1;55(3):129–34.
4. Delgado AHS, Jamal H, Young A, Ashley P. Scoping review of trials evaluating adhesive strategies in pediatric dentistry: where do simplified strategies lie? *BMC Oral Health* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2021 Dec 28];21(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33468122/>
5. Frankenberger R, Dudek MC, Winter J, Braun A, Krämer N, von Stein-Lausnitz M, et al. Amalgam Alternatives Critically Evaluated: Effect of Long-term Thermomechanical Loading on Marginal Quality, Wear, and Fracture Behavior. *J Adhes Dent* [Internet]. 2020 [cited 2021 Dec 28];22(1):107–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32030381/>
6. Ayna B, Celenk S, Atas O, Tümen EC, Uysal E, Toptanci IR. Microleakage of glass ionomer based restorative materials in primary teeth: An In vitro study. *Niger J Clin Pract* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2021 Dec 28];21(8):1034–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30074007/>
7. Pfefferkorn F. Scientific Manual Surefil one™ Self-Adhesive Composite Hybrid [Internet]. Germany; 2020 [cited 2022 Feb 24]. Available from: <https://www.dentsplysirona.com/content/dam/master/product-procedure-brand-categories/restorative/product-categories/direct-restoration/composites-flowables/posterior-composites/surefil-one/scientific-support-clinical-education/RES-scientific-manual-Surefil-one-scientific-compendium.pdf.coredownload.pdf>

8. Radhika M, Sajjan GS, Kumaraswamy B, Mittal N. Effect of different placement techniques on marginal microleakage of deep class-II cavities restored with two composite resin formulations. *Journal of Conservative Dentistry* [Internet]. 2010 [cited 2021 Dec 28];13(1):9. Available from: <https://www.jcd.org.in/article.asp?issn=0972-0707;year=2010;volume=13;issue=1;spage=9;epage=15;aulast=Radhika>
9. Radhika M, Sajjan G, Kumaraswamy B, Mittal N. Effect of different placement techniques on marginal microleakage of deep class-II cavities restored with two composite resin formulations. *J Conserv Dent* [Internet]. 2010 [cited 2022 Jun 10];13(1):9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20582213/>
10. François P, Remadi A, le Goff S, Abdel-Gawad S, Attal JP, Dursun E. Flexural properties and dentin adhesion in recently developed self-adhesive bulk-fill materials. *J Oral Sci* [Internet]. 2021 [cited 2021 Dec 28];63(2):139–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33597335/>
11. Mickenautsch S. High-viscosity glass-ionomer cements for direct posterior tooth restorations in permanent teeth: The evidence in brief. *J Dent* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2022 Jun 4];55:121–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27765512/>
12. Francois P, Fouquet V, Attal JP, Dursun E. Commercially Available Fluoride-Releasing Restorative Materials: A Review and a Proposal for Classification. *Materials* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 Jun 4];13(10). Available from: </pmc/articles/PMC7287768/>
13. Yao C, Ahmed MH, Okazaki Y, van Landuyt KL, Huang C, van Meerbeek B. Bonding Efficacy of a New Self-Adhesive Restorative onto Flat Dentin vs Class-I Cavity-bottom Dentin. *J Adhes Dent* [Internet]. 2020;22(1):65–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32030377>
14. Vilkinis V, Hörsted-Bindslev P, Baelum V. Two-year evaluation of class II resin-modified glass ionomer cement/composite open sandwich and composite restorations. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2000 [cited 2021 Dec 28];4(3):133–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11000317/>
15. Banomyong D, Palamara JEA, Messer HH, Burrow MF. Fluid flow after resin-composite restoration in extracted carious teeth. *European Journal of Oral Sciences*. 2009 Jun;117(3):334–42.

16. Sidhu SK. Clinical evaluations of resin-modified glass-ionomer restorations. *Dental Materials*. 2010 Jan 1;26(1):7–12.
17. Yuasa T, Iijima M, Ito S, Muguruma T, Saito T, Mizoguchi I. Effects of long-term storage and thermocycling on bond strength of two self-etching primer adhesive systems. *European Journal of Orthodontics* [Internet]. 2010 Jun 1 [cited 2022 Jun 8];32(3):285–90. Available from: <https://academic.oup.com/ejo/article/32/3/285/435978>
18. de Munck J, van Landuyt K, Coutinho E, Poitevin A, Peumans M, Lambrechts P, et al. Micro-tensile bond strength of adhesives bonded to Class-I cavity-bottom dentin after thermo-cycling. *Dent Mater* [Internet]. 2005 Nov [cited 2022 Jun 8];21(11):999–1007. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16181669/>
19. Yao C, Ahmed MH, Zhang F, Mercelis B, van Landuyt KL, Huang C, et al. Structural/Chemical Characterization and Bond Strength of a New Self-Adhesive Bulk-fill Restorative. *J Adhes Dent* [Internet]. 2020 [cited 2021 Dec 28];22(1):85–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32030379/>
20. Momoi Y, Hirosaki K, Kohno A, McCabe JF. Flexural properties of resin-modified “hybrid” glass-ionomers in comparison with conventional acid-base glass-ionomers. *Dent Mater J* [Internet]. 1995 [cited 2022 Jun 4];14(2):109–119. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8940550/>
21. Xie D, Brantley WA, Culbertson BM, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. *Dent Mater* [Internet]. 2000 [cited 2022 Jun 4];16(2):129–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11203534/>
22. Klee JE, Renn C, Elsner O. Development of Novel Polymer Technology for a New Class of Restorative Dental Materials. *J Adhes Dent* [Internet]. 2020 [cited 2022 Jun 4];22(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32030374/>
23. Li F, Weir MD, Fouad AF, Xu HHK. Time-kill behaviour against eight bacterial species and cytotoxicity of antibacterial monomers. *J Dent* [Internet]. 2013 Oct [cited 2021 Dec 29];41(10):881–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23876930/>
24. Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. *J Dent* [Internet]. 2000 [cited 2021 Dec 29];28(1):61–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10666963/>

25. Mazzi U, Schibli R, Pietzsch HJ, Künstler JU, Spies H. Technetium in medicine. Technetium-99m Pharmaceuticals: Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine. 2007;7–58.
26. Alani AH, Toh CG. Detection of microleakage around dental restorations: a review. Oper Dent [Internet]. 1997 Jul [cited 2022 Jun 8];22(4):173–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9484158/>
27. Majety KK, Pujar M. In vitro evaluation of microleakage of class II packable composite resin restorations using flowable composite and resin modified glass ionomers as intermediate layers. J Conserv Dent [Internet]. 2011 Oct [cited 2022 Jun 8];14(4):414–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22144815/>
28. Pereira IR, Carvalho C, Paulo S, Martinho JP, Coelho AS, Paula AB, et al. Apical Sealing Ability of Two Calcium Silicate-Based Sealers Using a Radioactive Isotope Method: An In Vitro Apexification Model. Materials (Basel) [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2022 Jun 8];14(21). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34771981/>
29. Jafari F, Rahimi S, Shahi S, Jafari S. Endodontic microleakage studies: correlation among different methods, clinical relevance, and potential laboratory errors. Minerva Stomatol [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2022 Jun 8];66(4):169–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28650135/>
30. Gogna R, Jagadis S, Shashikal K. A comparative in vitro study of microleakage by a radioactive isotope and compressive strength of three nanofilled composite resin restorations. Journal of Conservative Dentistry : JCD [Internet]. 2011 Apr [cited 2022 Jun 8];14(2):128. Available from: [/pmc/articles/PMC3146102/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22144815/)
31. Camps J, Pashley D. Reliability of the dye penetration studies. J Endod [Internet]. 2003 [cited 2022 Jun 8];29(9):592–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14503834/>
32. Afonso T, Lusitana M, de Andrade S, Pega M, Luiz Da Costa Michelotto A, Margarida A, et al. Effect of calcium hydroxide as intracanal medication on the apical sealing ability of mineral trioxide aggregate (MTA): an in vitro apexification model Efeito da medicação intra-canal de hidróxido de cálcio na capacidade seladora do mineral trióxido agregado (MTA): um modelo de apicificação in vitro. J Health Sci Inst. 2012;30(4):318–40.

33. Ferreira MM. Quantitative scintigraphic analysis of the apical seal in Thermafil/Topseal and RealSeal 1/Realseal filled root canals. *World Journal of Stomatology*. 2013;2(2):30.
34. Keshava Prasad B, Sudhakaran S. Radioactive Isotope Evaluation of Coronal Leakage after Endodontic Treatment in Teeth Restored with Three Different Intracoronal Restorative Materials: An in vitro Study. *World Journal of Dentistry*. 2011 Mar;2(1):35–8.
35. Garoushi S, Vallittu PK, Lassila L. Characterization of fluoride releasing restorative dental materials. *Dent Mater J [Internet]*. 2018 [cited 2022 Jun 4];37(2):293–300. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29279547/>
36. Kinomoto Y, Torii M, Takeshige F, Ebisu S. Comparison of polymerization contraction stresses between self- and light-curing composites. *J Dent [Internet]*. 1999 [cited 2022 Jun 8];27(5):383–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10377614/>
37. Gomes de Araújo-Neto V, Sebold M, Fernandes de Castro E, Feitosa VP, Giannini M. Evaluation of physico-mechanical properties and filler particles characterization of conventional, bulk-fill, and bioactive resin-based composites. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2021 Mar 1;115:104288.
38. Carneiro ER, Coelho AS, Amaro I, Paula AB, Marto CM, Saraiva J, et al. Mechanical and Tribological Characterization of a Bioactive Composite Resin. *Applied Sciences [Internet]*. 2021 Jan 1 [cited 2022 Jun 4];11(17):8256. Available from: <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/95931>
39. Schneider LFJ, Cavalcante LM, Silikas N. Shrinkage Stresses Generated during Resin-Composite Applications: A Review. *Journal of Dental Biomechanics [Internet]*. 2010 [cited 2022 Jun 8];2010(1):1–14. Available from: </pmc/articles/PMC2951111/>
40. Kleverlaan CJ, Feilzer AJ. Polymerization shrinkage and contraction stress of dental resin composites. *Dent Mater [Internet]*. 2005 Dec [cited 2022 Jun 8];21(12):1150–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16040118/>
41. Alvarez-Gayosso C, Barceló-Santana F, Guerrero-Ibarra J, Sáez-Espínola G, Canseco-Martínez MA. Calculation of contraction rates due to shrinkage in light-cured composites. *Dent Mater [Internet]*. 2004 Mar [cited 2022 Jun 8];20(3):228–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15214308/>

42. Bausch JR, de Lange K, Davidson CL, Peters A, de Gee AJ. Clinical significance of polymerization shrinkage of composite resins. *J Prosthet Dent* [Internet]. 1982 [cited 2022 Jun 8];48(1):59–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6955507/>
43. Itoh K, Yanagawa T, Wakumoto S. Effect of composition and curing type of composite on adaptation to dentin cavity wall. *Dent Mater J* [Internet]. 1986 [cited 2022 Jun 8];5(2):260–266298. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3333236/>
44. Papadopoulos C, Dionysopoulos D, Tolidis K, Kouros P, Koliniotou-Koumpia E, Tsitrou EA. Structural Integrity Evaluation of Large MOD Restorations Fabricated With a Bulk-Fill and a CAD/CAM Resin Composite Material. *Oper Dent* [Internet]. 2019 [cited 2022 Jun 8];44(3):312–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30444690/>
45. Wilson AD, Kent BE. The glass-ionomer cement, a new translucent dental filling material. *Journal of Applied Chemistry and Biotechnology* [Internet]. 1971 Nov 1 [cited 2022 Jun 8];21(11):313–313. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jctb.5020211101>
46. Ribeiros I, Vasconcelos I, Ramos M, Lopes M, Ginjeira A. Estudo comparativo da adaptação marginal de 2 cimentos endodônticos. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*. 2015 Jul 1;56(3):173–81.
47. Vicente A, Ortiz AJ, Bravo LA. Microleakage beneath brackets bonded with flowable materials: effect of thermocycling. *European Journal of Orthodontics* [Internet]. 2009 Aug 1 [cited 2022 Jun 8];31(4):390–6. Available from: <https://academic.oup.com/ejo/article/31/4/390/401723>
48. Roggendorf MJ, Krämer N, Appelt A, Naumann M, Frankenberger R. Marginal quality of flowable 4-mm base vs. conventionally layered resin composite. *Journal of Dentistry*. 2011 Oct 1;39(10):643–7.
49. Burke FJT, Crisp RJ, James A, MacKenzie L, Pal A, Sands P, et al. Two year clinical evaluation of a low-shrink resin composite material in UK general dental practices. *Dental Materials*. 2011 Jul 1;27(7):622–30.
50. Ernst CP, Brandenbusch M, Meyer G, Canbek K, Gottschalk F, Willershausen B. Two-year clinical performance of a nanofiller vs a fine-particle hybrid resin composite. *Clinical Oral Investigations* [Internet]. 2006 Jun 23 [cited 2022 Jun 8];10(2):119–25. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-006-0041-8>

51. Amaral FLB, Colucci V, Palma-Dibb RG, Corona SAM. Assessment of In Vitro Methods Used to Promote Adhesive Interface Degradation: A Critical Review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* [Internet]. 2007 Dec 1 [cited 2022 Jun 8];19(6):340–53. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1708-8240.2007.00134.x>