



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

JULIANA BENACE FERNANDES

**FORMAÇÃO DE CÁRIE POR STREPTOCOCCUS MUTANS NAS MARGENS DE
RESTAURAÇÕES COM MATERIAIS BIOATIVOS**

2022

JULIANA BENACE FERNANDES

**FORMAÇÃO DE CÁRIE POR STREPTOCOCCUS MUTANS NAS MARGENS
DE RESTAURAÇÕES COM MATERIAIS BIOATIVOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia,
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como
parte das exigências para a obtenção do grau de CIRURGIÃO-DENTISTA.

Orientador: Profa. Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele

Coorientador: Sheila Celia Mondragón Contreras

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Fernandes, Juliana Benace

Formação de cárie por *Streptococcus mutans* nas margens de restaurações com materiais bioativos / Juliana Benace Fernandes. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.

46 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Graduação em Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.

Orientador: Taciana Marco Ferraz Caneppele

Coorientador: Sheila Celia Mondragón Contreras

1. Restauração Dentária Permanente. 2. Cárie dentária. 3. Cariostáticos. 4. Remineralização dentária. 5. Cimentos de Ionômeros de Vidro. I. Caneppele, Taciana Marco Ferraz, orient. II. Contreras, Sheila Celia Mondragón, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Taciana Marco Ferraz Caneppele (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Departamento de Odontologia Restauradora

Prof. Assoc. Lafayette Nogueira Júnior

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese

Prof. Assoc. Tarcisio Arruda Paes Junior

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese

São José dos Campos, 5 de julho de 2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a minha família, amigos e ao meu namorado que me incentivaram e apoiaram em todos os momentos.

Dedico esse trabalho à minha orientadora, Profa. Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele, e à minha coorientadora, Sheila Celia Mondragón Contreras que me ensinaram tanto e me introduziram ao interessantíssimo mundo da pesquisa.

Dedico este ainda à todas as pessoas e profissionais incríveis que tive o prazer de conhecer e trabalhar durante a graduação e o desenvolvimento desse estudo, sou muito grata por todo o conhecimento que me foi passado durante minha formação na minha querida Unesp e espero poder entregar na minha vida profissional toda excelência que me foi ensinada.

Agradeço também a Fapesp (processo n° 2019/14729-9, financiamento de 2020 a 2021 e processo n° 2020/15561-1, financiamento de 2021 a 2022) pelas oportunidades e concessão das bolsas de iniciação científica durante a graduação.

RESUMO

Fernandes JB. Formação de cárie por *Streptococcus mutans* nas margens de restaurações com materiais bioativos [trabalho de conclusão de curso]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022

Objetivo: Avaliar a formação de cárie induzida por um desafio cariogênico bacteriano nas margens de restaurações confeccionadas com materiais restauradores bioativos ou resina composta, em esmalte e dentina. **Material e Métodos:** Foram confeccionados 100 corpos de prova a partir de incisivos bovinos, preparados de modo que 50 receberam uma cavidade com margem em esmalte, e os outros 50 com margem em dentina. Essas 2 categorias foram divididas em 5 grupos, restaurados com um dos seguintes materiais: Cention N, utilizado com e sem adesivo; EQUIA Forte; Tetric N-Ceram; e o grupo controle, que permaneceu sem restauração. Essas amostras foram expostas a envelhecimento por ciclagem térmica, tiveram sua microdureza Knoop (KHN) superficial inicial avaliada, e foram então expostas a um desafio cariogênico utilizando um sistema bacteriano com *Streptococcus mutans*. O desenvolvimento das lesões de cárie artificial foi identificado e quantificado pela avaliação da KHN superficial e subsuperficial do esmalte, ou da dentina, adjacente à restauração e por meio da análise por microscopia de luz polarizada. **Resultados:** Em ambas as microdurezas (superficial e de subsuperfície) os grupos de materiais bioativos apresentaram melhores desempenhos. À microscopia de luz polarizada uma maior ocorrência de cárie foi observada nas adjacências das restaurações de resina composta em esmalte e a menor pertenceu aos grupos de materiais bioativos. **Conclusão:** Os materiais restauradores bioativos evidenciam melhor comportamento em relação à KHN e conseqüentemente maior inibição da desmineralização relacionada a processos cariosos, no esmalte e na dentina, que também pôde ser evidenciada pela análise por microscopia de luz polarizada.

Palavras-chave: restauração dentária permanente; cárie dentária; cariostáticos; remineralização dentária.

ABSTRACT

Fernandes JB. Artificial caries formation by Streptococcus mutans at the margins of bioactive materials restorations [graduation final work]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2022.

Objective: Evaluate the formation of caries induced by a cariogenic challenge at the margin of bioactive dental restorative materials or composite resin restorations, located on dentin or enamel. **Material and Methods:** One hundred samples made from bovine incisor were prepared and received a standardized cavity (fifty in enamel and fifty in dentin). These 2 groups (enamel and dentin) were then divided into 5 groups, restored with one of the following materials: Cention N, used with and without adhesive; EQUIA Forte; Tetric N-Ceram; and the control group, that remained with no restoration (10 enamel/10 dentin). The samples were thermocycling aged, had their initial surface Knoop microhardness (KHN) evaluated, and were exposed to a cariogenic challenge using a bacterial system with Streptococcus mutans. The development of artificial caries lesions was identified and quantified by surface and subsurface knoop microhardness (KHN) of the enamel, or dentin, adjacent to the restoration; and they were analyzed under polarized light microscopy. **Results:** In both Knoop microhardness (surface and subsurface) the groups restored with bioactive materials presented better results. Under polarized light microscopy, a higher occurrence of caries lesions was observed in the proximity of composite resin restorations in enamel and the lowest occurrence belonged to bioactive materials groups. **Conclusion:** Bioactive restorative materials showed better behavior in relation to KHN and hence greater inhibition of demineralization related to cariogenic processes, in enamel and dentin, which was also evidenced by the analysis under polarized light microscopy.

Keywords: permanent dental restoration; dental caries; cariostatic agents; tooth remineralization.

SUMÁRIO

RESUMO	4
ABSTRACT	5
1 INTRODUÇÃO.....	7
2 MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 Desenho do estudo.....	10
2.2 Confeção dos corpos de prova.....	10
2.3 Divisão dos grupos experimentais.....	11
2.4 Procedimento restaurador	14
2.5 Envelhecimento artificial por ciclagem térmica	17
2.6 Preparação dos meios de cultivo bacteriano	17
2.7 Desafio cariogênico	18
2.8 Identificação de lesões cariosas	19
2.8.1 Avaliação da microdureza superficial	19
2.8.2 Avaliação da microdureza de subsuperfície	21
2.8.3 Análise por Microscópio de Luz Polarizada	22
2.9 Análises dos dados	23
3 RESULTADOS	25
3.1 Microdureza superficial	25
3.2 Microdureza de subsuperfície	26
3.3 Análise por microscópio de luz polarizada	28
4 DISCUSSÃO.....	32
5 CONCLUSÃO	37
6 REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por tratamentos restauradores ao longo dos anos resultou no desenvolvimento progressivo e constante dos materiais restauradores, buscando melhorar cada vez mais seu desempenho clínico e ainda atender as exigências estéticas atuais. Todavia, sobreviver em um ambiente tão hostil quanto a cavidade oral não é uma tarefa fácil. Com frequentes alterações de pH e temperatura esse meio desafia constantemente qualquer material que nele é inserido, muitas vezes acabando por limitar a longevidade dos nossos tratamentos restauradores; culminando no seu insucesso e tornando necessária sua substituição [1-3].

Diversos estudos apontam a formação de cárie na margem de restaurações como a principal razão de insucesso de tratamentos restauradores em resina composta, fato associado na literatura a sua contração de polimerização, ausência de propriedades antimicrobianas, e a degradação desses materiais restauradores por enzimas salivares. Esses problemas resultam na formação de fendas marginais na interface dente-restauração, criando um espaço propício ao acúmulo de biofilme bacteriano e à colonização de bactérias patogênicas da cárie, especialmente *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*, favorecendo assim o desenvolvimento de lesões de cárie [4-6].

Em contraste com o observado nas resinas compostas, materiais restauradores como o amálgama de prata e o cimento de ionômero de vidro evidenciam menor quantidade de retenção de biofilme, propriedade que é diretamente relacionada à liberação de agentes como os íons de flúor, de prata, de cobre e de zinco, que interferem diretamente no processo cariogênico, pois são capazes de modificar o biofilme quantitativa e qualitativamente [7,8]. Esses estão ainda isentos dos problemas relacionados à contração de fotopolimerização. No entanto, mesmo apresentando essas vantagens, seu uso acaba sendo limitado, pois os cimentos de ionômero de vidro convencionais não são indicados para a confecção de restaurações amplas, e nem em regiões de grande exigência mecânica, enquanto as restaurações de amálgama são antiestéticas e contém mercúrio em sua composição, componente considerado

altamente tóxico e que levou até a sua proibição em alguns países nos últimos anos [9-11].

Em decorrência da ausência de um material restaurador que seja capaz de atender plenamente às demandas clínicas e estéticas com boa longevidade a classe de materiais bioativos se tornou alvo de uma gama de pesquisas e avanços nos últimos anos, pois esses materiais apresentam uma série de propriedades que parecem suprir uma parcela das limitações apresentadas por materiais bioinertes (resina composta) [12].

O EQUIA Forte é um sistema restaurador híbrido de vidro constituído por um cimento de ionômero de vidro, o EQUIA Forte Fil, com novas partículas de vidro ultrafinas e altamente reativas e um ácido poliacrílico de maior peso molecular, sendo complementado por um revestimento resinoso nanoparticulado, o EQUIA Forte Coat, que incorpora um novo monômero multifuncional capaz de reduzir a porosidade superficial, aprimorar suas propriedades físicas e melhorar as propriedades estéticas do material [13]. Este novo sistema apresenta liberação de flúor, compatibilidade com o campo úmido, adesão química a estrutura dental, maior microdureza superficial e resistência à compressão do que outros cimentos de ionômeros de vidro [14] e biocompatibilidade, podendo ser usado em cavidades profundas por apresentar ausência de sensibilidade pós-operatória. O EQUIA Forte pode ser usado em restaurações de classe I, V e, ao contrário dos ionômeros de vidro convencionais, em restaurações de classe II em zonas de suporte de tensão, onde este vem apresentando bom desempenho clínico [15,16]

O outro integrante da classe de materiais bioativos que decidimos incluir no estudo é o Cention N. Este tipo de material é anunciado como uma nova categoria, subgrupo da classe dos materiais compósitos, chamada de “Alkasite” [17]. O material “Alkasite” é constituído por partículas de vidro alcalino capazes de liberar íons neutralizadores dos ácidos que são produzidos pelas bactérias patogênicas da cárie, evitando assim a desmineralização das estruturas dentais (íons de hidroxila). Este material restaurador pode ser colocado em cavidades retentivas sem a aplicação de um adesivo, ou em preparos minimamente invasivos com aplicação deste. Desde que chegou ao mercado, o Cention N vem mostrando uma boa resistência à compressão e tração [18] e microinfiltração

mínima [19] quando comparado a outros materiais restauradores, assim como um aumento da adaptação marginal quando este é utilizado com um adesivo [20-22]. O vidro alcalino presente na sua composição é ainda responsável pela liberação de uma quantidade substancial de fluoreto durante um longo período de tempo, aumentando assim a capacidade de remineralização da estrutura dental pelo Cention N [23-28]. A liberação de flúor é constantemente associada às propriedades bioativas encontradas nos materiais dessa classe, sendo o fluoreto um elemento químico reativo capaz de interferir de maneira benéfica no equilíbrio fisiológico entre a desmineralização e a remineralização das estruturas dentais, esse se tornou amplamente conhecido e estudado pelo seu potencial anti-cariogênico. Em vista disso que a hipótese de que a classe de materiais bioativos (materiais como o EQUIA Forte e o Cention N) possa ser capaz de exibir tal propriedade, podendo assim inibir clinicamente a formação de cárie nas margens das restaurações, ou ao menos reduzir consideravelmente a desmineralização sofrida pelo esmalte, e pela dentina, presentes na vizinhança da região restaurada [25,26, 29-32].

Diante deste cenário que este estudo laboratorial foi conduzido, em busca de avaliar o comportamento de dois materiais da classe dos bioativos (EQUIA Forte e Cention N) frente a um desafio cariogênico bacteriano individualmente, e em comparação com um material bioinerte, como a resina composta, e ainda com cavidades não restauradas (grupo controle), tanto em esmalte quanto em dentina. E com isso, conhecer mais a respeito das suas propriedades bioativas e dos possíveis efeitos desses materiais na estrutura dental remanescente, avaliando sua capacidade de protegê-la da formação de novas lesões.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho do estudo

Este estudo *in vitro* utilizou 100 unidades experimentais (corpos de prova) confeccionadas a partir de incisivos bovinos que foram preparados, restaurados e submetidos a um desafio cariogênico por 28 dias. Os fatores em estudo foram o local da superfície dental restaurada (esmalte ou dentina) e o material restaurador utilizado, que dividiu os espécimes nos seguintes 5 grupos iguais (n=20; 10 esmalte/10 dentina): Cention N (Ivoclar Vivadent - Alkasite, *material restaurador bioativo*); Cention N + Adesivo Tetric N-Bond Universal (Ivoclar Vivadent); EQUIA Forte (GC) (*ionômero de vidro*); Tetric N-Ceram (Ivoclar Vivadent - *resina composta*); e o grupo controle, que permaneceu sem restauração. Foi avaliado o comportamento desses frente ao desafio cariogênico bacteriano. A formação de cárie artificial foi avaliada pela medição da microdureza Knoop superficial e subsuperficial e pela análise das amostras por microscopia de luz polarizada.

2.2 Confeção dos corpos de prova

A confecção dos corpos de prova teve início pela seleção de mais de 100 incisivos bovinos adequados que foram devidamente higienizados e tiveram sua porção radicular removida (Figura 1A) para facilitar seu posicionamento em tubos de PVC (Figura 1B), para confecção de espécimes. Para isso uma cortadeira de precisão (Labcut, Extec, Enfield, CT, EUA) foi utilizada (Figura 1C e 1D), resultando em espécimes quadrangulares de aproximadamente 7 x 7 mm, e com 3 mm de espessura (Figura 1E), posteriormente desgastados manualmente com lixa de granulação P 600 adaptadas a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, BR) a 300 rpm sob abundante refrigeração, resultando assim em espécimes mais regulares.

Com todos os espécimes nas dimensões determinadas esses foram divididos em 2 grandes grupos para que metade recebesse a cavidade na

superfície de esmalte, e a outra metade na de dentina (n=50), virando o espécime para que a cavidade fosse preparada na dentina que circundava a polpa. O preparo das cavidades foi feito com uma ponta diamantada tronco cônica FG 1148 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil) acoplada a uma máquina que realiza preparos padronizados (Figura 1F) e trabalha sob constante refrigeração, onde cavidades quadrangulares medindo 4 x 4 mm e com 2 mm de profundidade foram confeccionadas em todas as amostras (Figura 1G). Após a confecção dos preparos, os espécimes foram colocados em uma cuba de ultrassom para limpeza, sendo então armazenados a 4°C em gazes embebidas com água destilada até o momento da realização do procedimento restaurador.

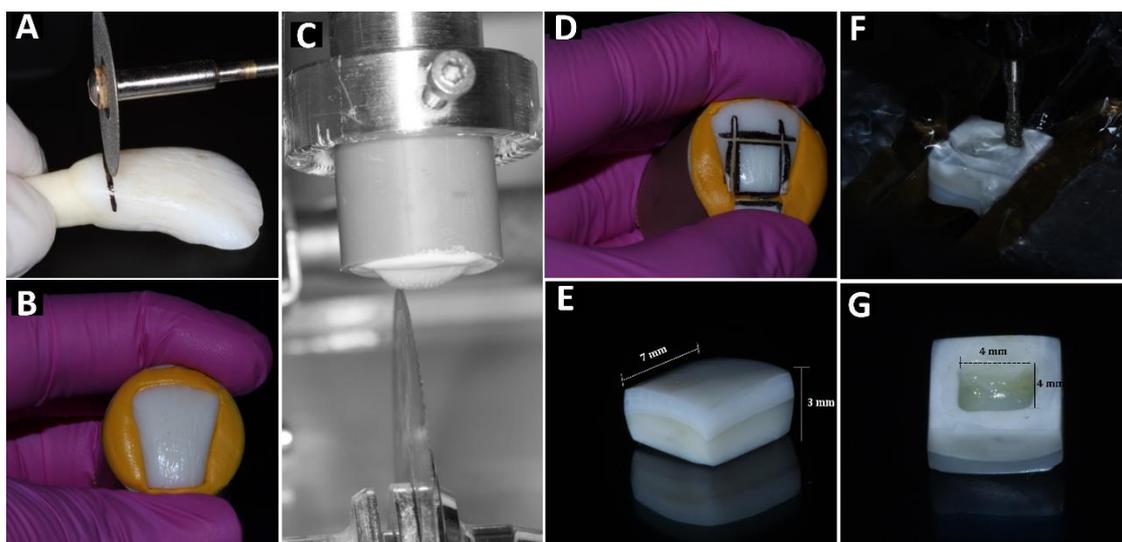


Figura 1 - Confecção e preparo dos espécimes. A) Recorte do dente bovino; B) Coroa posicionada no cano e preso com silicone; C) Conjunto posicionado na cortadeira de precisão; D) Amostra cortada; E) Amostra pronta para o preparo da cavidade; F) Preparo da cavidade; G) Cavidade pronta.

Fonte: Elaborada pela autora.

2.3 Divisão dos grupos experimentais

As amostras dos dois grandes grupos de esmalte e dentina (n=50) foram aleatoriamente divididos em 5 grupos (n=20; 10 esmalte/10 dentina) para que fossem posteriormente restauradas com os diferentes materiais selecionados, resultando nos seguintes grupos experimentais:

CN: Cention N (**Ivoclar Vivadent**);

CA: Cention N + Adesivo Tetric N-Bond Universal (**Ivoclar Vivadent**);

TC: Tetric N-Ceram (**Ivoclar Vivadent**);

EF: EQUIA Forte (**GC**);

SR: Preparo sem restauração (**grupo controle**).

Todos os materiais, fabricantes, suas composições e lotes estão listados no Quadro 1.

Quadro 1- Materiais utilizados, composições e fabricantes

MATERIAL	COR	COMPOSIÇÃO		FABRICANTE
Cention N (CN)	A2	Pó	Vidro de fluoro-silicato de cálcio, vidro de silicato Ba-Al, vidro de fluorossilicato de Ca-Ba-Al, IbF3 e copolímeros.	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
		Líquido	UDMA, DCP, PEG-400 DMA Alifático aromático-UDMA.	
EQUIA Forte Fil (EF)	A2	Pó	Estrôncio fluoro alumino silicato de vidro, ácido poliacrílico.	GC, Tokyo, Japan.
		Líquido	Ácido poliacrílico aquoso	
EQUIA Forte Coat	-	Metacrilato de metilo, canforoquinona.		GC, Tokyo, Japão.
Tetric N- Ceram (TC)	A2	Bis-GMA, UDMA/ Bário, vidro, IbF3, SiO2 óxido misto, e copolímeros		Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
Tetric N-Bond Universal	-	Metacrilatos, água, etanol, dióxido de silício altamente disperso, iniciadores e estabilizadores		Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein

Legenda: Ba, Bário; Ca, Cálcio; Al, Alumínio; Si, Silício; IbF3, Trifluoreto de itérbio; UDMA, uretano dimetacrilato; DCP, Triciclodecano-dimetanol dimetacrilato; PEG-400 DMA, Polietilenoglicol 400 Dimetacrilato; DMA, HEMA, 2-hidroxietil metacrilato; MDP, Metacrilóiloxidecil di-hidrogenofosfato; HEDMA, hidroetil dimetacrilato; Bis-GMA, bisfenolglicidil metacrilato; TEGDMA, trietileno glicol dimetacrilato.

Fonte: Elaborado pela autora.

Quadro 2 - Unidade fotopolimerizadora utilizada no estudo

APARELHO	TIPO	MODO	IRRADIÂNCIA	COMPRIMENTO DE ONDA	FABRICANTE
Bluephase N	LED	Alta intensidade contínua	1200 mW/cm ²	380nm-515nm	Ivoclar Vivadent Schaan, Liechtenstein

Fonte: Elaborado pela autora.

2.4 Procedimento restaurador

Antes do procedimento restaurador todas as cavidades foram submetidas ao seguinte protocolo de limpeza: profilaxia utilizando pasta a base de pedra pomes e água; lavagem e secagem das cavidades; aplicação de detergente aniônico (Tergental-Biodinâmica) [33,34] na cavidade com o auxílio de uma pinça clínica e uma bolinha de algodão, esfregando durante 5 segundos; e finalizando o protocolo com a lavagem da cavidade com spray ar/água por 20 segundos e secagem com bolinha de algodão.

As cavidades foram restauradas de acordo com o grupo ao qual a amostra pertencia. O procedimento restaurador foi realizado de acordo com as recomendações e seguindo as instruções dos fabricantes.

- Grupo CN: Cention N (Ivoclar Vivadent): Após misturar o pó com o líquido, seguindo as instruções do fabricante, a cavidade foi preenchida em um único incremento com o auxílio de uma espátula.

- Grupo CA: Cention N + Adesivo Tetric N-Bond Universal (Ivoclar Vivadent): Realizamos condicionamento ácido seletivo em esmalte nos corpos de prova que possuíam o preparo em esmalte (ácido fosfórico a 37% aplicado no esmalte que circundava a cavidade por 30 segundos, seguido pela lavagem e secagem do preparo). O sistema adesivo Tetric N-Bond Universal foi aplicado na cavidade de forma ativa por 20 segundos utilizando um aplicador microbrush, e um jato de ar foi aplicado por 5 segundos para promover o espalhamento do adesivo e a evaporação dos solventes nele presentes; seguido pela fotopolimerização do

adesivo por 10 segundos (Bluephase N, Potência de luz: 1200 mW/cm²). O pó e o líquido que compõem o material foram então misturados, seguindo as instruções do fabricante, e as cavidades foram preenchidas com a ajuda de uma espátula. Para as cavidades com margem em dentina, todos os procedimentos foram realizados da mesma maneira, exceto pela não realização do condicionamento seletivo do esmalte.

- Grupo TC: Resina composta Tetric N-Ceram (Ivoclar Vivadent): Foi realizado o condicionamento ácido seletivo do esmalte nas cavidades confeccionadas em esmalte (aplicação de ácido fosfórico a 37% por 30 segundos no esmalte que circundava a cavidade, seguido pela lavagem e secagem do preparo). O sistema adesivo Tetric N-Bond Universal foi aplicado na cavidade de forma ativa por 20 segundos utilizando um aplicador microbrush, e um jato de ar foi aplicado por 5 segundos para promover o espalhamento do adesivo e a evaporação dos solventes nele presentes; seguido pela fotopolimerização do adesivo por 10 segundos (Bluephase N, Potência de luz: 1200 mW/cm²). O procedimento restaurador desse grupo foi finalizado pela inserção da resina composta em um único incremento de 2 mm, e sua posterior fotopolimerização, por 20 segundos (Bluephase N, Potência de luz: 1200 mW/cm²). Para as cavidades com margem em dentina, todos os procedimentos foram realizados da mesma maneira, exceto pela não realização do condicionamento seletivo do esmalte.

- Grupo EF: EQUIA Forte (**GC**): Ácido poliacrílico a 20% foi aplicado sobre a superfície da cavidade e deixado por 10 segundos. Após esse tempo a cavidade foi lavada com água em abundância e uma bolinha de algodão foi usada para remover os excessos de água, tomando cuidado para que a superfície ainda permanecesse úmida, não secando-a completamente. O cimento de ionômero de vidro foi ativado utilizando um misturador de amálgama por 10 segundos, e posteriormente aplicado na cavidade com auxílio de um aplicador de cápsula (GC III). O procedimento restaurador desse grupo foi finalizado pela aplicação do EQUIA Forte Coat sobre a superfície do material restaurador utilizando uma micro-ponta aplicadora, e pela fotopolimerização deste durante 20 segundos.

Os espécimes foram mantidos sob umidade relativa por uma semana antes do teste para permitir a polimerização pós-cura das restaurações de resina composta e a reação completa das restaurações de ionômero de vidro.

O quadro 2 mostra as especificações da Unidade fotopolimerizadora utilizada.

Quadro 3 - Unidade fotopolimerizadora utilizada no estudo

APARELHO	TIPO	MODO	IRRADIÂNCIA	COMPRIMENTO DE ONDA	FABRICANTE
Bluephase N	LED	Alta intensidade contínua	1200 mW/cm ²	380nm-515nm	Ivoclar Vivadent Schaan, Liechtenstein

Fonte: Elaborado pela autora.

Para proporcionar o correto polimento e planificação da superfície externa das restaurações todos os espécimes foram levados a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, BR), onde foram manualmente polidos utilizando lixas d'água em granulações decrescentes a 300 rpm, sob abundante refrigeração. A sequência de polimento usada foi: P1200 por 30 s, P2400 também por 30 s e P4000 por 2 min. O procedimento restaurador de cada grupo se encontra representado na Figura 2.

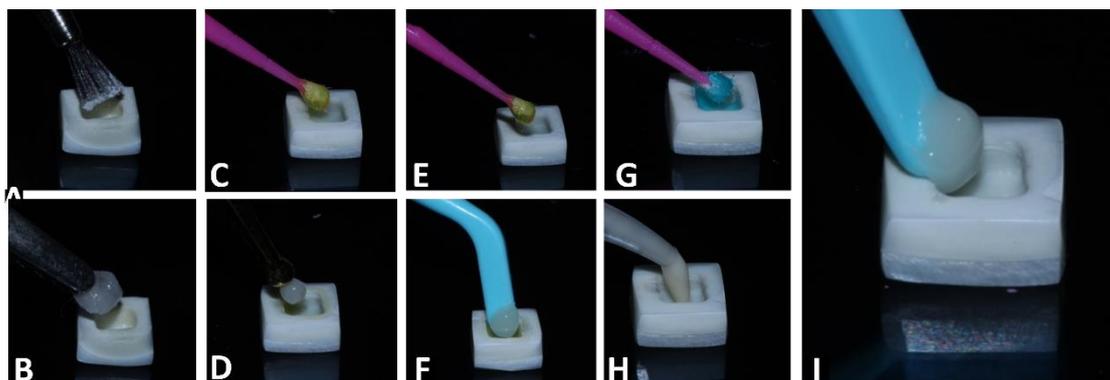


Figura 2 - Procedimento restaurador dos espécimes. A) Profilaxia utilizando pasta a base de pedra-pomes e água; B) Aplicação de detergente aniônico (Tergental-Biodinâmica); C e D: Restauração com resina; E e F: Restauração com Cention N com sistema adesivo; G e H: Restauração com EQUIA Forte; I) Restauração com Cention N sem sistema adesivo. Fonte: Elaborada pela autora.

2.5 Envelhecimento artificial por ciclagem térmica

Devidamente restaurados e polidos, os espécimes foram expostos ao envelhecimento artificial por ciclagem térmica, sendo submetidas a 5.000 ciclos térmicos com banhos de água nas temperaturas de 5°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e 55°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), ficando 30 segundos submersas em cada temperatura e com intervalos de 10 segundos entre cada banho.

2.6 Preparação dos meios de cultivo bacteriano

Os meios de cultivo bacteriano foram preparados usando cepas padrão de *Streptococcus mutans* (UA159), mantidas em freezer a -80°C no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos/UNESP. Para a ativação desse microrganismo, a cepa foi cultivada em ágar Infuso Cérebro Coração (BHI, Himedia, Mumbai, Índia) por 48h a 37°C sob condições de microaerofilia em estufa Heal force, HF 212 UV (5% de CO_2).

Após esse período, as células microbianas foram centrifugadas a 5.000 rpm durante 10 minutos, formando um sobrenadante e um sedimento. O sobrenadante foi desprezado, e o sedimento foi suspenso novamente em 10 ml de tampão fosfato-salino (PBS). Esse procedimento foi repetido duas vezes. A

padronização do micro-organismo foi realizada por meio do espectrofotômetro (B582, Micronal, SP, Brasil) utilizando comprimento de onda de 0,398 nm e densidade óptica de 1,620, resultando na concentração de 10^8 células/ml.

2.7 Desafio cariogênico

Os espécimes foram então submetidos a formação de cárie artificial, promovida pelo método do desafio cariogênico bacteriano. O tempo utilizado em nosso estudo foi de 28 dias, pois este já havia sido estabelecido por outros estudos como tempo de incubação suficiente para reproduzir condições semelhantes ao in vivo [33,34].

Para isso, os espécimes foram colocados em tubos Falcon com água destilada e levados para esterilização por calor úmido através de autoclave (121°C, 30 min). Após sua esterilização, os espécimes foram posicionados, com o auxílio de uma pinça clínica estéril, dentro dos poços de placas de 24 poços, com a face restaurada virada para cima, onde 2 ml de caldo BHI enriquecido com 5% de sacarose e 225 µl da suspensão padronizada de *S. mutans* (10^8 células/ml) foram adicionados em cada poço. Essas placas foram então incubadas em estufa com 5% de CO₂ a 37°C por 48 h.

Após esse período de incubação as placas foram retiradas da estufa e seus poços lavados três vezes utilizando 2 ml de PBS, no intuito de remover as células fracamente aderidas. Feito isso, 2 ml de caldo BHI com 5% de sacarose eram novamente adicionados a cada poço, e as placas novamente incubadas, nas mesmas condições (Figura 3). Todo esse processo foi feito no interior do fluxo laminar previamente descontaminado com álcool a 70% e luz ultravioleta (UV). Esse procedimento foi então repetido durante os 28 dias de incubação das amostras [35,36].

Após este período os corpos de prova foram transferidos para tubos Falcon contendo 4 ml de PBS, onde o biofilme bacteriano aderido aos espécimes foi removido utilizando um homogeneizador ultrassônico (Sonopuls HD2200, Bandelin Eletronic). Feito isso, os espécimes foram mantidos em microtubos tipo eppendorf em umidade relativa e armazenados a 4°C.



Figura 3 - Espécimes cobertos de biofilme posicionados nos poços da placa
Fonte: Elaborada pela autora.

2.8 Identificação de lesões cariosas

2.8.1 Avaliação da microdureza superficial

O primeiro método utilizado para identificação de lesões cariosas foi a avaliação da microdureza Knoop superficial dos espécimes. Após o envelhecimento por ciclagem térmica e antes do desafio cariogênico todos os 100 corpos de prova tiveram sua microdureza Knoop superficial inicial avaliada para que uma nova medição fosse feita posteriormente a esse e assim pudéssemos comparar diretamente a situação final à inicial e calcular a porcentagem de perda da microdureza superficial (%PMS) decorrente da indução de cárie utilizando a seguinte fórmula: $100 \times (\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final} / \text{microdureza inicial})$. Para ambas as medições os corpos de prova foram posicionados em um molde de silicone que permitiu que a superfície restaurada da amostra ficasse paralela ao solo e perpendicular à lente e a ponta indentadora do microdurômetro (Figura 4A), possibilitando sua adequada observação e leitura. O desenvolvimento das lesões de cárie artificial foi

quantificado por meio de ensaios com um testador de microdureza Knoop (FM-700, Future Tech Company, Tóquio, Japão), realizando três indentações na superfície de esmalte, ou de dentina, adjacente à restauração (Figura 4B), com o longo eixo do diamante posicionado perpendicular à superfície dentária e utilizando o penetrador Knoop com carga estática de 25 gramas aplicada por 5 segundos nas superfícies de esmalte [37] (Figura 4C e 4D), e 10 gramas aplicada por 10 segundos nas de dentina [38] (Figura 4E e 4F).

Ao fim da medição da microdureza superficial final todos os espécimes foram seccionados utilizando uma cortadeira de precisão (Labcut, Extec, Enfield, CT, EUA) a fim de obter duas metades de cada espécime, para que uma metade pudesse ter sua microdureza subsuperficial avaliada, e a outra pudesse ser seccionada de modo a possibilitar sua análise por microscopia de luz polarizada.

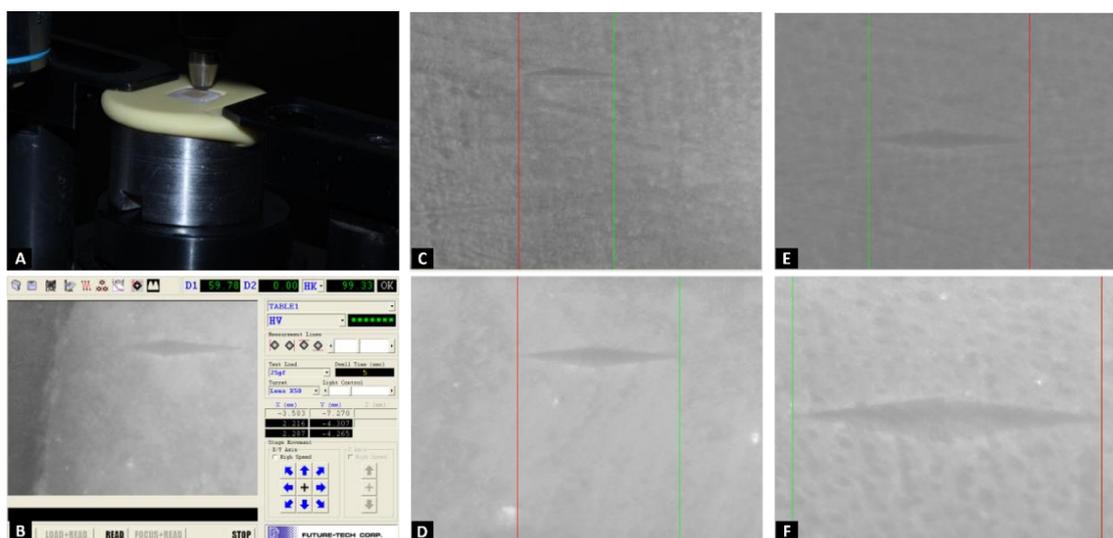


Figura 4 - Avaliação da microdureza superficial. A) Amostra posicionada no microdurômetro; B) Leitura da microdureza na estrutura dental adjacente à restauração; C) Leitura microdureza do esmalte antes do desafio cariogênico; D) Leitura microdureza do esmalte após do desafio cariogênico; E) Leitura microdureza da dentina antes do desafio cariogênico; F) Leitura microdureza da dentina após do desafio cariogênico.

Fonte: Elaborada pela autora.

2.8.2 Avaliação da microdureza de subsuperfície

Para a avaliação da microdureza de subsuperfície uma das metades de cada espécime foi incluída individualmente em canos de PVC preenchidos com resina epóxi (Redelease, São Paulo, SP, Brasil) de modo a estabilizá-los e possibilitando adequada leitura.

Após a polimerização completa da resina o conjunto (cano e espécime embutido com resina) foi levado ao microdurômetro, para a leitura da microdureza transversal da região ao redor da restauração, a fim de para avaliar a profundidade da desmineralização sofrida pelos espécimes durante o desafio cariogênico. Para tal também utilizamos o penetrador Knoop, com seu longo eixo posicionado paralelamente à superfície dentária de interesse com carga estática de 25 gramas aplicada por 5 segundos para esmalte [37] e 10 gramas aplicada por 10 segundos para dentina [38]. Foram realizadas um total de dezoito medidas (indentações) adjacentes a restauração (9 no lado direito e 9 no lado esquerdo) em cada amostra. As indentações foram feitas na margem oclusal de cada restauração, e em 3 diferentes distâncias e profundidades padronizadas (100, 200 e 300 μm de distância da margem oclusal da restauração e a 20, 40 e 60 μm de profundidade) e sempre com o longo eixo do diamante posicionado perpendicularmente à superfície dentária [39,40] (Figura 5 e 6).

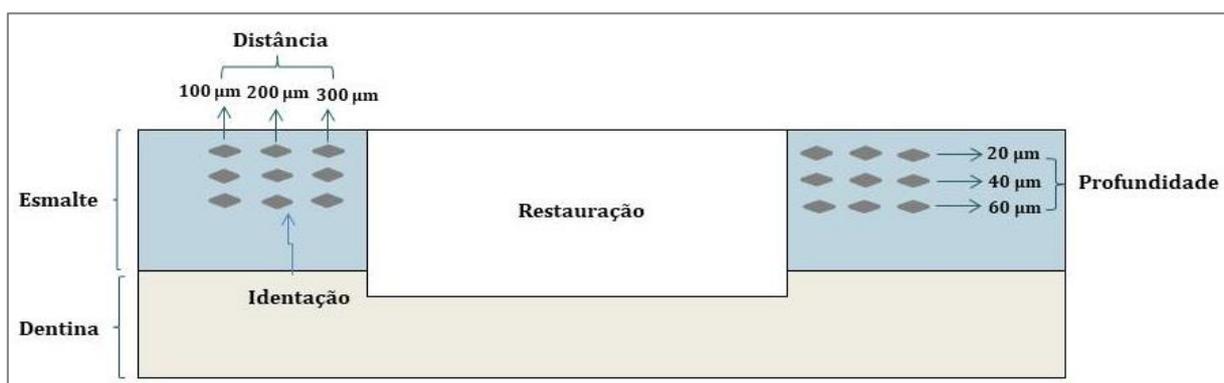


Figura 5 - Esquema da leitura da microdureza de subsuperfície
Fonte: Elaborada pela autora.

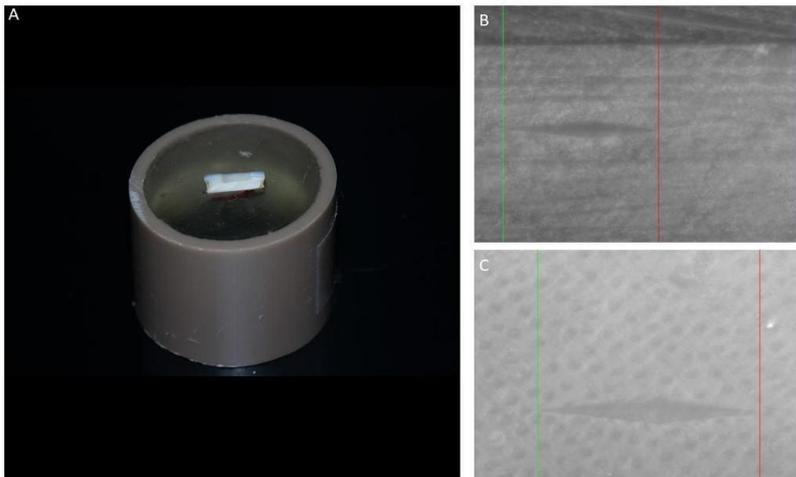


Figura 6 - Avaliação da microdureza de subsuperfície. A) Amostra posicionada para ser avaliada no microdurômetro; B) Leitura da microdureza no esmalte adjacente à restauração; C) Leitura microdureza na dentina adjacente à restauração.

Fonte: Elaborada pela autora.

2.8.3 Análise por Microscópio de Luz Polarizada

Após a obtenção da microdureza de subsuperfície de todos os corpos de prova, a outra metade dos espécimes (que não estava embutida nos canos de PVC) foi seccionada usando uma cortadeira de precisão (Labcut, Extec, Enfield, CT, EUA) a fim de obter secções seriadas de aproximadamente 200 μm de espessura. Feito isso, a secção mais mediana e adequada de cada amostra foi escolhida e colada em lâminas de acetato para microscópio com cola instantânea à base de cianoacrilato (793, Tekbond Saint-Gobain, Embu das Artes, SP, Brasil) (Figura 7A) que serviram de apoio para que a espessura adequada das amostras pudesse ser atingida por meio do desgaste manual com lixas d'água (granulações 400, 600 e 1200) adaptadas a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, BR) até a espessura final de 80 μm a 50 μm [41-43]. O conjunto da lâmina com a amostra colada e na devida espessura verificada utilizando micrômetro digital (MICROMAR 40 EXL, Mahr Inc, USA) (Figura 7B) foi então levado ao equipamento para que a amostra fosse analisada utilizando um microscópio de luz polarizada (Axioskop 40, Zeiss, Alemanha) (Figura 7C). Buscou-se avaliar a ocorrência de lesões de cárie artificial nas margens das restaurações com os diferentes materiais [42,44].

Essa ocorrência era atribuída à amostra na presença de lesão externa e/ou lesão de parede, já a ausência de lesão (inibição desta) era atribuída quando não havia modificações na birrefringência do esmalte localizado entre a parede do preparo cavitário e o início do corpo da lesão.

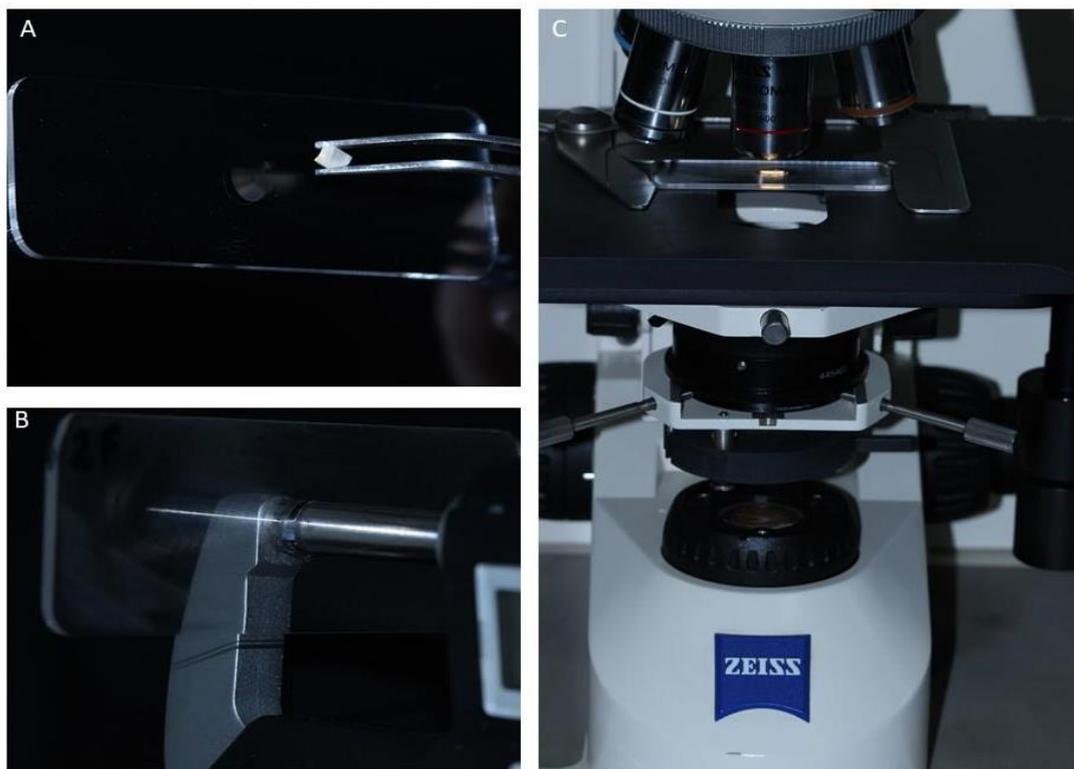


Figura 7 - Preparo da amostra para avaliação em microscópio de luz polarizada. Amostra selecionada e colada em lâminas de acetato; B) Lâmina com a amostra colada e espessura verificada utilizando micrômetro; C) Amostra analisada utilizando um microscópio de luz polarizada.

Fonte: Elaborada pela autora.

2.9 Análises dos dados

Com o objetivo de avaliar a formação de cárie induzida por *Streptococcus Mutans* na margem de restaurações em esmalte e dentina com materiais bioativos, foi delineado um experimento que segue um esquema de 5 condições experimentais sob 10 repetições em esmalte e em dentina. Nesse estudo, cujos dentes (esmalte ou dentina) foram a unidade experimental, foi considerada uma

variável independente (ou experimental): materiais restauradores bioativos, em 5 níveis: Cention N, Cention N + adesivo, Tetric N-Ceram, EQUIA Forte, sem restauração (controle).

A variável dependente (ou resposta) foi a microdureza superficial, e a microdureza de subsuperfície identificada operacionalmente por meio do microdurômetro. A porcentagem de perda da microdureza superficial (%PMS) foi obtida pela seguinte fórmula: $100 \times (\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final} / \text{microdureza inicial})$. Os dados referentes ao esmalte obedeceram aos critérios de normalidade, então a análise de variância anova a 1 fator e teste de Tukey foram aplicados. Para a dentina, os dados não apresentaram normalidade, então foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparações de Dunn.

Os dados referentes à microdureza de subsuperfície em esmalte e dentina obedeceram aos critérios de normalidade, sendo aplicados então a análise de variância a 1 fator e teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%.

3 RESULTADOS

3.1 Microdureza superficial

O Teste de Anova a 1 fator para a microdureza do esmalte mostrou diferenças estatísticas para %PMS ($p < 0,001$). As médias e os respectivos desvios-padrão dos valores de microdureza Knoop inicial (antes do desafio cariogênico) e após o desafio cariogênico, bem como os resultados do Teste de Tukey estão expressos na Tabela I.

Tabela I – Microdureza Knoop (KHN) do esmalte

Grupos	Inicial		Final		%Perda microdureza superficial (PMS)	
	Média	±DP	Média	±DP	Média	±DP
Cention N (CN)	284,29	52,78	183,46	47,26	36,12 a*	6,53
Cention N + adesivo (CA)	349,66	82,24	204,57	60,83	42,15 a	6,19
Tetric N-Ceram (TC)	429,88	64,65	177,77	44,83	58,16 b	10,45
EQUIA Forte (EF)	365,37	64,44	246,96	63,51	33,35 a	7,78
Controle (SR)	404,17	47,95	172,22	50,92	56,55 b	12,11

Legenda: Média ± Desvio padrão (DP) dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN), bem como à % perda da microdureza do esmalte para cada condição experimental, e resultado do Teste de Tukey ($\alpha = 0,05$)

* - Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significante entre os grupos ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

Para os dados obtidos nos espécimes de dentina, o teste de Kruskal-Wallis mostrou diferenças estatísticas para %PMS ($p < 0,001$). A Tabela II apresenta os dados de mediana e 1º e 3º quartil da microdureza superficial em dentina, bem como os resultados do Teste de Dunn para a PMS.

Tabela II - Microdureza Knoop (KHN) da dentina

Grupos	Inicial		Final		%Perda microdureza superficial	
	Mediana	1º;3ºquartil	Mediana	1º;3º quartil	Mediana	1º;3º quartil
Cention N (CN)	49,63	47,17; 52,97	30,86	29,57; 34,66	37,41 a*	32,97; 40,25
Cention N + adesivo (CA)	53,28	52,27; 60,02	33,76	31,40; 36,89	40,52 a	37,97; 44,93
Tetric N-Ceram (TC)	57,46	54,35; 61,30	20,11	17,50; 21,34	64,92 b	57,49; 71,18
EQUIA Forte (EF)	58,79	55,10; 62,35	40,54	35,72; 43,93	31,13 a	26,77; 35,88
Controle (SR)	51,55	48,87; 58,35	15,36	15,10; 18,38	68,18 b	67,46; 71,38

Legenda: Mediana e 1º/3º quartil dos valores iniciais e finais de microdureza Knoop (KHN), bem como à % perda da microdureza da dentina para cada condição experimental

* - Letras diferentes significam diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

Os grupos dos materiais bioativos (EF/EQUIA Forte, CN/ Cention N, e CA/ Cention N + adesivo) apresentaram menores %PMS, sendo estatisticamente diferentes dos grupos TC/ Tetric N-Ceram e controle, tanto em esmalte quanto em dentina.

3.2 Microdureza de subsuperfície

O Teste de Anova a 1 fator mostrou diferenças estatísticas para microdureza de subsuperfície em esmalte e dentina ($p < 0,001$).

As figuras 9 e 10 mostram os valores da média da microdureza de subsuperfície do esmalte e dentina, respectivamente, bem como os resultados do teste de Tukey ($p < 0,05$).

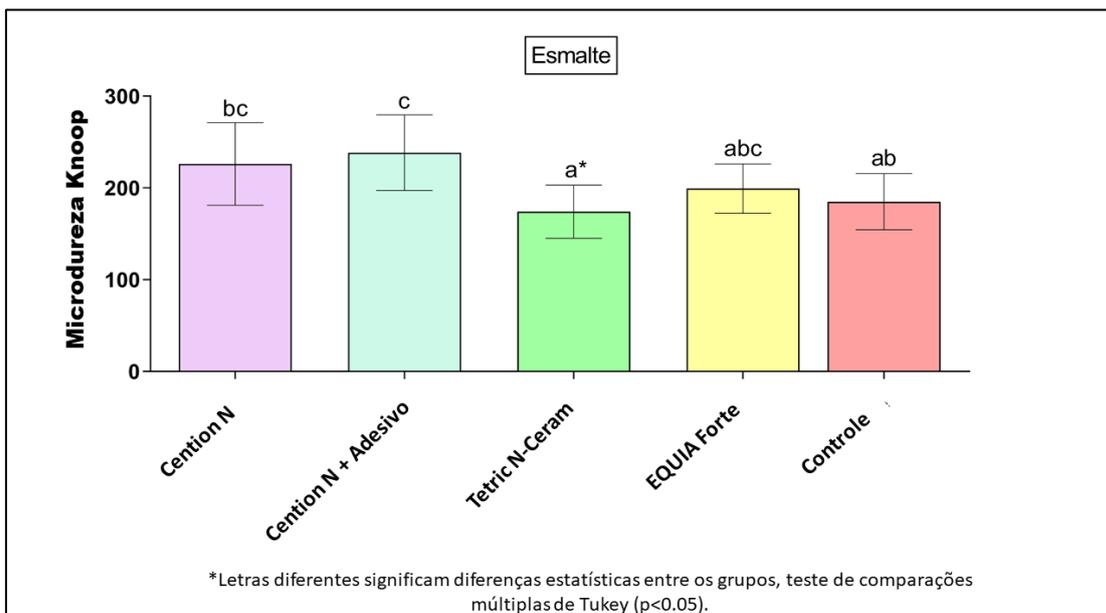


Figura 8 - Valores de média e desvio-padrão, e resultado do Teste de Tukey para a microdureza de subsuperfície em esmalte
 Fonte: Elaborada pela autora.

Nas amostras restauradas em esmalte a menor microdureza de subsuperfície foi observada nas adjacências das cavidades restauradas com resina composta (TC), apresentando valores semelhantes aos encontrados ao redor das cavidades não restauradas (RS) que constituíam o grupo controle. As maiores microdurezas de esmalte pertenceram aos grupos restaurados com EF, CN ou CN com sistema adesivo, que não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

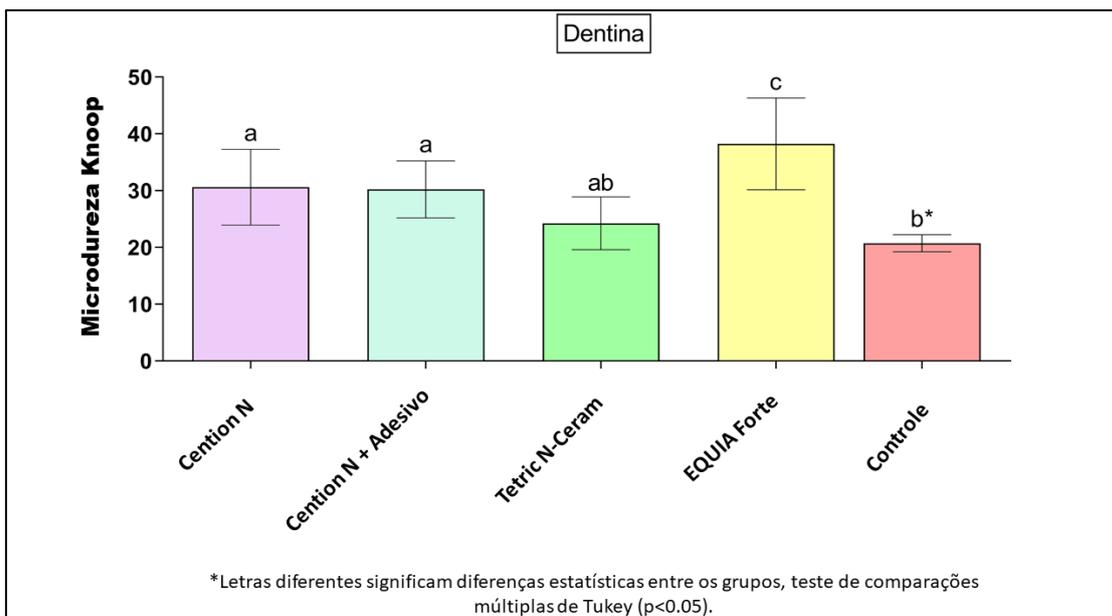


Figura 9 - Valores de média e desvio-padrão, e resultado do Teste de Tukey para a microdureza de subsuperfície em dentina
Fonte: Elaborada pela autora.

Em dentina, os menores valores de microdureza subsuperficial pertenceram ao grupo controle, sendo encontrados ao redor das cavidades não restauradas, e não diferindo estatisticamente do grupo restaurado com resina composta. Já os maiores valores de microdureza subsuperficial desse tecido foram encontrados nas adjacências das restaurações do grupo EF.

3.3 Análise por microscópio de luz polarizada

Após alcançarmos espessura adequada (50 a 80 μm) das secções transversais dos espécimes, foi possível uma análise minuciosa das estruturas dentais adjacentes aos diferentes materiais restauradores em microscopia de luz polarizada, viabilizando a observação detalhada dos efeitos da indução de cárie artificial sobre os tecidos dentais às margens das cavidades (Figura 10A e 10B).

A presença de lesão de cárie foi identificada em todos os grupos experimentais, sendo essa atribuída quando uma lesão externa e/ou lesão de parede era observada na amostra. Ao microscópio de luz polarizada as lesões externas apresentavam algumas características histológicas marcantes, sendo observada uma zona superficial intacta, constituída por tecido praticamente

intacto que apresentava maior conteúdo mineral e birrefringência negativa, e o corpo da lesão localizado mais na profundidade do tecido entre a zona superficial e a zona escura, sendo essa uma região de acentuada desmineralização e birrefringência positiva (Figura 11B e 12B).

Já as lesões de parede eram representadas por birrefringência negativa observada nas margens das restaurações (Figura 11A e 12A).

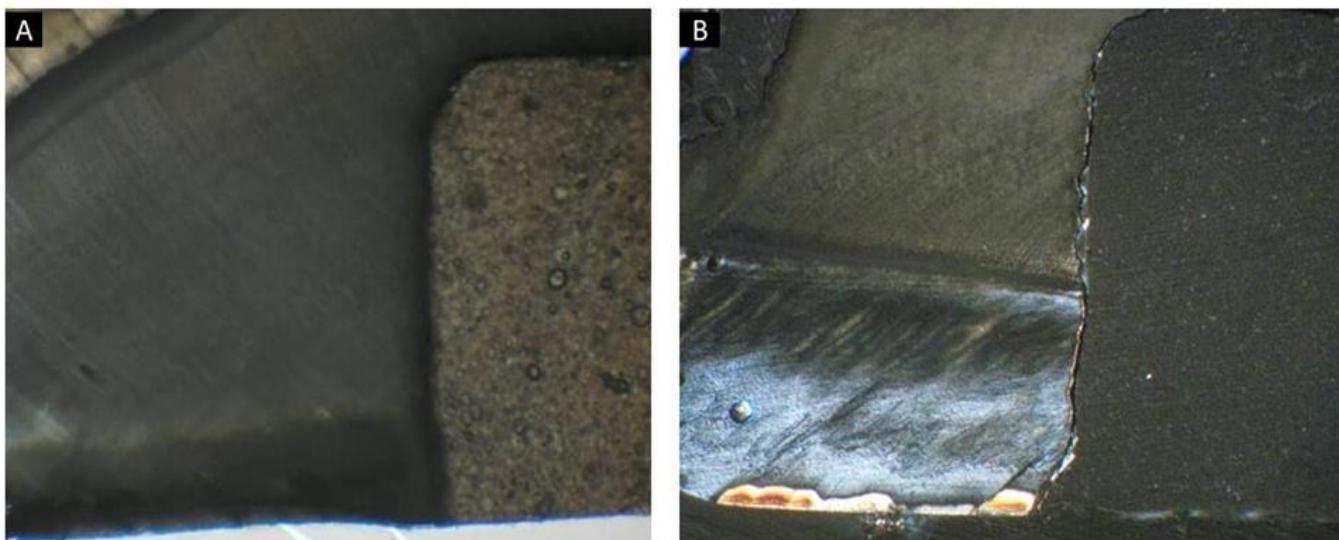


Figura 10 - Imagens obtidas no microscópio de luz polarizada. A) Dentina adjacente a material de restauração; B) Esmalte adjacente a material de restauração.
Fonte: Elaborada pela autora.

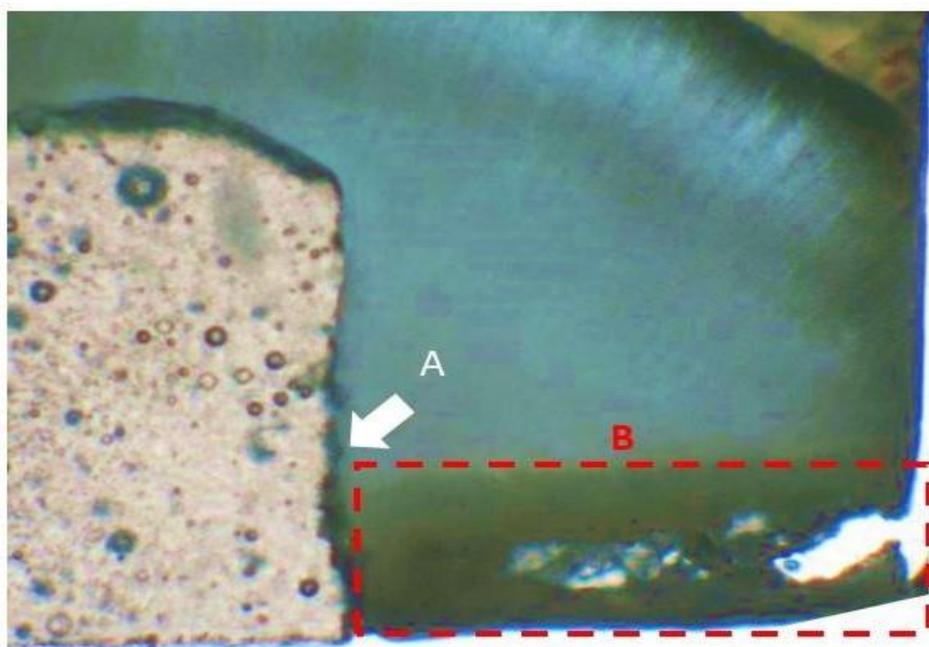


Figura 11 - Amostra evidenciando lesão de cárie na interface material restaurador/dentina. A) Lesão cariogênica de parede formada artificialmente; B) Lesão de cárie externa formada artificialmente

Fonte: Elaborada pela autora.

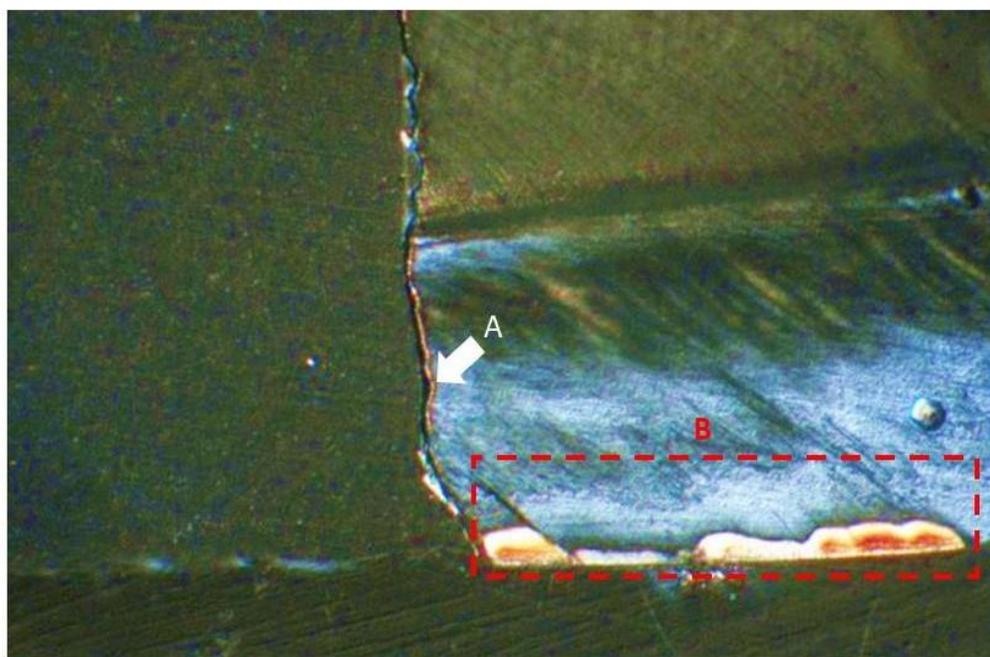


Figura 12 - Amostra evidenciando lesão de cárie na interface material restaurador/esmalte. A) Lesão cariogênica de parede formada artificialmente; B) Lesão de cárie externa formada artificialmente

Fonte: Elaborada pela autora.

Nas amostras restauradas em esmalte uma maior ocorrência de cárie foi observada no tecido adjacente à restaurações em resina composta, e a menor ocorrência pertenceu aos grupos restaurados com materiais bioativos, sendo ainda constatado que quando essas lesões estavam presentes nesses grupos ela havia se formado mais afastada das margens das restaurações confeccionadas com os materiais bioativos do que o que era observado nas amostras restauradas com resina composta e no grupo controle (cavidade não restaurada).

Já nas amostras restauradas em dentina, devido as próprias características apresentadas pelo tecido, uma grande perda de tecido dentinário adjacente às cavidades, associada à presença de lesão de cárie, foi observada em todos os grupos experimentais independentemente do material restaurador utilizado, não havendo diferença clara entre os grupos restaurados com materiais bioativos ou com resina composta. Com a perda tecidual apenas 1 lesão de cárie de parede com as características histológicas explicadas anteriormente pode ser identificada, tendo essa ocorrido em uma amostra restaurada com o material Alkasite Cention N.

A Tabela III mostra o número de espécimes com lesões de cárie observadas no microscópio de luz polarizada.

Tabela III – Dados sobre a ocorrência da lesão de cárie em esmalte e dentina (lesão externa e de parede), conforme os grupos

Grupos	Esmalte		Dentina	
	Lesão externa	Lesão de parede	Lesão externa	Lesão de parede
Cention N (CN)	3	2	10	9
Cention N + adesivo (CA)	5	2	10	10
Tetric N-Ceram (TC)	8	8	10	10
EQUIA Forte (EF)	3	3	10	10
Controle (SR)	4	3	10	10

Fonte: Elaborada pela autora.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo foi conduzido visando avaliar se os materiais restauradores bioativos são capazes de proteger a estrutura dental remanescente da formação de lesões de cárie nas margens da restauração e comparar o seu comportamento frente a um desafio cariogênico bacteriano ao de um material bioinerte, como a resina composta.

Os materiais bioativos EQUIA Forte e Cention N exibiram menores porcentagens de perda da microdureza superficial (%PMS) quando comparados a uma resina composta (Tetric N-Ceram) e ao grupo controle (cavidades não restauradas). Este resultado pode ser interpretado como produto da presença de propriedades bioativas eficientes e similares em ambos os materiais, corroborando com os resultados encontrados por Theerarath e Sriarj [45], que demonstraram uma recuperação da dureza de superfície de lesões de cárie formadas artificialmente nos grupos restaurados com esses materiais, não diferindo estatisticamente entre si e evidenciando desempenho significativamente superior aos grupos restaurados com resina composta. Outro estudo conduzido por Ruengrungsom et al. [46] avaliou a liberação de F, Ca e P por esses dois materiais e apontou que EQUIA Forte é capaz de inibir a formação de lesões iniciais de cárie devido a sua alta liberação de flúor, e que o Cention N pode ser uma ótima alternativa para pacientes com alto risco de cárie por conta da sua alta liberação de Ca com capacidade de recarga associada à uma liberação aceitável de F; íons capazes de prevenir a formação de cárie e ainda remineralizar o esmalte e a dentina cariados, aumentando o conteúdo mineral nas regiões das lesões segundo Skrtic et al. e Dickens et al. [47,48].

A segunda avaliação realizada foi a medição da microdureza transversal, ou de subsuperfície, que possibilitou observar a profundidade da desmineralização sofrida pelo tecido adjacente a restauração (ou a cavidade, no caso do grupo controle) em decorrência do desafio cariogênico bacteriano. Observou-se resultados semelhantes aos obtidos na microdureza de superfície. Na avaliação das amostras restauradas em esmalte os menores valores dessa dureza foram encontrados no tecido adjacente às cavidades restauradas com resina composta (TC), com valores de microdureza de subsuperfície

semelhantes aos encontrados nas adjacências das cavidades não restauradas (SR). Já os maiores valores em esmalte pertenceram aos grupos restaurados com o EQUIA Forte (EF), Cention N (CN), e Cention N com adesivo (CA), não diferindo estatisticamente entre si. Em relação às amostras de dentina os menores valores de microdureza de subsuperfície pertenceram ao grupo controle, sendo encontrados no tecido adjacente às cavidades não restauradas e não apresentando diferença estatística em relação ao grupo restaurado com resina composta. Os maiores valores dessa microdureza em dentina pertenceram ao grupo EQUIA Forte, seguido pelos grupos restaurados com o Cention N (CN e CA), que apresentaram resultados semelhantes tanto em esmalte quanto em dentina, indicando que a aplicação prévia de adesivo na cavidade não gerou diferença significativa.

Os resultados dessas duas avaliações rejeitam a hipótese nula de que os valores de dureza obtidos nos tecidos adjacentes às cavidades não apresentariam diferenças estatísticas independente do material restaurador utilizado, pois os grupos restaurados com materiais bioativos apresentaram desempenhos estatisticamente superiores, indicando que esses possam estar participando dos fenômenos de desmineralização e remineralização da estrutura dental remanescente, podendo atuar diretamente no processo carioso, como apontado por Ciccone et al., Navarro e colaboradores, e Forss e Seppä [49,50].

Essa capacidade protetora da estrutura dental remanescente frente a desafios cariogênicos também foi evidenciada por um estudo realizado por Sobh e colaboradores [51] que submeteu amostras restauradas com EQUIA Forte e outros materiais bioativos (Fuji VII EP e Beautifil II) a um desafio cariogênico e concluiu que todos os materiais estudados foram capazes de inibir a desmineralização do tecido presente nas margens das restaurações. Em um estudo realizado por Gupta et al. [24] uma maior liberação de íons de flúor pelo Cention N foi ainda constatada quando o pH do meio se encontrava ácido, como o que ocorre em condições cariogênicas, sendo essa associada ainda a um grande potencial alcalinizante que torna esse material capaz de elevar o pH do meio bucal, interferindo diretamente no processo de desmineralização dental. Essas propriedades foram observadas principalmente quando este foi utilizado no modo autopolimerizável como foi feito no presente ensaio.

Outro estudo de Tiskaya et al. [26] apontou que o Cention N é ainda capaz de formar uma fase semelhante a apatita em saliva artificial com pH próximo a 7 (neutro), enfatizando sua participação na remineralização do tecido após estacionar sua desmineralização, e expôs ainda que essas propriedades bioativas (decorrentes da liberação de íons) podem explicar a baixa incidência de cárie secundária associada a esse material que é observada clinicamente.

EQUIA Forte é um material restaurador com dureza superficial e resistência à flexão superiores quando comparado a outros ionômeros de vidro disponíveis comercialmente, inclusive ao seu antecessor Fuji IX GP, segundo Moshaverinia et al. [17]. Este tipo de ionômero de vidro é utilizado em associação à uma cobertura à base de resina chamada de EQUIA Forte Coat, que deve ser aplicada na superfície da restauração finalizada promovendo brilho claro e proteção adicional ao material restaurador; esse foi utilizado no nosso grupo EF conforme as recomendações do fabricante. Em um estudo realizado por Buldur e Karaarslan [52], as amostras de EQUIA Forte que receberam a cobertura de EQUIA Forte Coat apresentaram maiores valores de dureza superficial após envelhecimento térmico do que as sem o revestimento e seus resultados indicam que a aplicação de verniz afeta positivamente a sensibilidade à umidade do EQUIA Forte, resultando em um melhor desempenho desse material, também evidenciado pelos estudos de Sobh e colaboradores, Yap et al. e Fuhrmann e colaboradores [51,53,54]

Dasgupta et al. e Rifai et al. [55,56], utilizaram eletrodos íon-seletivos de fluoreto e verificaram o potencial superior de liberação de flúor do EQUIA Forte em comparação com outros materiais bioativos, como outro cimento de ionômero de vidro, Fuji IX GP EXTRA, e algumas resinas compostas com propriedades bioativas; Activa Bioactive Restorative, Beautifil Bulk, e Dyract XP. A liberação de fluoreto é uma característica encontrada tanto no EQUIA Forte quanto no Cention N por diversos estudos [25,46,56], e que, segundo Tiskaya et al., Gupta et al., Xu et al., Hsu e colaboradores, Hicks et al., e Weigand e colaboradores [24,26,57-60], pode estar diretamente associada à redução do crescimento bacteriano na região, a inibição da desmineralização e ao aumento da capacidade de remineralização da estrutura dental remanescente adjacente a esses materiais [61-64].

Além dessa alta liberação de flúor o Cention N dá origem aos “Alkasites”, subgrupo de uma classe de materiais bioativos [16] caracterizada pela presença de partículas de vidro alcalino capazes de liberar íons neutralizadores dos ácidos produzidos pelas bactérias cariogênicas, evitando assim a desmineralização das estruturas dentais (íons de hidroxila) segundo Gupta e colaboradores [24]. Esse material pode ser utilizado em um incremento único e dispensa fotopolimerização adicional. Porém, estudos de Gomes de Araújo-Neto et al. e Panpisut et al. [65,66] evidenciaram que a fotopolimerização desse aumenta seu grau de conversão e melhora suas propriedades mecânicas. O Cention N vem sendo apontado pela literatura como uma alternativa superior aos materiais a base de ionômero de vidro para restaurar dentes posteriores, uma vez que, segundo Kaur et al. [67], apresenta resistência à compressão significativamente maior que estes materiais. Outros estudos mostraram também que além do Cention N apresentar propriedades mecânicas favoráveis, sua resistência flexural não é afetada por condições cariogênicas, ao contrário da de outros materiais bioativos, que, segundo Yap et al., apresentaram redução nessas condições (Filtek Z350, Beautifil-bulk Restorative e Activa Bioactive Restorative) [53].

Em um estudo realizado por Mohamed et al. [68], a resistência de união promovida pelo Cention N, quando esse é inserido na cavidade em incremento único, é comparável à uma restauração em resina composta nanohíbrida confeccionada utilizando a técnica incremental. No mesmo ensaio esse material bioativo apresentou ainda menor microinfiltração quando comparado a resina composta.

A força de adesão à dentina conseguida quando o Cention N é fotopolimerizado e utilizado em associação com um sistema adesivo universal consegue ser semelhante a encontrada na resina Surefil One (Denstply Sirona), segundo Yao e colaboradores [69], e apresenta performance melhor, com menos microinfiltração, do que outros materiais bioativos (GC Fuji II e Zirconomer) segundo Kumari et al. [70]. No entanto, a utilização do Cention N autopolimerizável deve ser preferida do ponto de vista de bioatividade, pois segundo Gupta e colaboradores [24] sua fotopolimerização levou à uma redução significativa na liberação de Flúor e no seu potencial alcalinizante em pH ácido, e ainda, segundo o estudo de Mohammadi et al. [71] não houve diferença

estatística significativa na resistência à flexão do Cention N quando esse foi fotopolimerizado.

O presente trabalho foi um estudo *in vitro* e como tal apresenta algumas limitações, sendo uma das principais a grande dificuldade em simular de maneira precisa um ambiente tão complexo quanto a cavidade oral. Outros estudos ainda são necessários para analisar e determinar as propriedades mecânicas e físico-químicas dos materiais bioativos, para assim conhecer cada vez mais a respeito do comportamento destes materiais. Além de mais estudos laboratoriais, a elaboração de estudos clínicos é de extrema importância para que possamos conhecer e entender as diferentes aplicações clínicas dos materiais testados quando estes se encontram verdadeiramente em função.

5 CONCLUSÃO

Mediante os resultados deste estudo *in vitro* conclui-se que:

I) Os materiais restauradores bioativos forneceram proteção para o esmalte e a dentina expostos ao desafio cariogênico, evidenciado pela menor variação dos valores de microdureza de superfície e de subsuperfície em relação aos tecidos adjacentes às cavidades restauradas com resina composta e às cavidades sem restauração.

II) O material restaurador da categoria Alkasite (Cention N) pode ser considerado um material promissor e com boas propriedades bioativas, independentemente do seu uso com ou sem um sistema adesivo, tanto em esmalte quanto em dentina.

III) O sistema de ionômero de vidro EQUIA Forte com partículas bioativas é caracterizado por apresentar um efeito anticariogênico alto em comparação à uma resina composta convencional.

REFERÊNCIAS

1. Choi JE, Lyons KM, Kieser JA, Waddell NJ. Diurnal variation of intraoral pH and temperature. *BDJ Open*. 2017 Jun 30;3:17015. doi: 10.1038/bdjopen.2017.15. PMID: 29607085; PMCID: PMC5842828.
2. Choi JE, Waddell JN, Lyons KM, Kieser JA. Intraoral pH and temperature during sleep with and without mouth breathing. *J Oral Rehabil*. 2016 May 43(5):356-63. doi: 10.1111/joor.12372. Epub 2015 Dec 15. PMID: 26666708
3. Demarco FF, Correa MB, Cenci MS, Moraes RR, Opdam NJ. Longevity of posterior composite restorations: not only a matter of materials. *Dent Mater*. 2012 Jan;28(1):87-101. doi: 10.1016/j.dental.2011.09.003. PMID: 22192253.
4. Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitão J, et al. Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *J Am Dent Assoc*. 2007 Jun;138(6):775-83. doi: 10.14219/jada.archive.2007.0265. PMID: 17545266.
5. Delaviz Y, Finer Y, Santerre JP. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: a rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dent Mater*. 2014 Jan;30(1):16-32. doi: 10.1016/j.dental.2013.08.201. Epub 2013 Oct 7. PMID: 24113132.
6. Ciccone JC, Verri MP, Navarro MFL, Salvador SL, Palma-Dibb RG, Avaliação in vitro do potencial antimicrobiano de diferentes materiais restauradores. *Mat Res*. 2003 Sept 29; 7(2):231-4. doi:10.1590/S1516-14392004000200003.
7. Fujimoto Y, Iwasa M, Murayama R, Miyazaki M, Nagafuji A, Nakatsuka T. Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. *Dent Mater J*. 2010 Aug;29(4):392-7. doi: 10.4012/dmj.2010-015. PMID: 20610878.
8. Svanberg M, Mjor IA, Orstavik D. Mutans streptococci in plaque from margins of amalgam, composite, and glass-ionomer restorations. *J Dent Res*. 1990 Mar;69(3):861-4. doi: 10.1177/00220345900690030601. PMID: 2109000.
9. Frankenberger R, Garcia-Godoy F, Kramer N. Clinical performance of viscous glass ionomer cement in posterior cavities over two years. *Int J Dent*. 2009;2009:781462. doi: 10.1155/2009/781462. PMID: 20339470; PMCID: PMC2836880.

10. Wilson N, Lynch C. Amalgam and minimal intervention: an incompatible relationship. *Prim Dent J*. 2013 Oct;2(4):18. doi: 10.1308/205016814809859419. PMID: 24466617.
11. Tibau AV, Grube BD. Mercury contamination from dental amalgam. *J Health Pollut*. 2019 Jun 4;9(22):190612. doi: 10.5696/2156-9614-9.22.190612. PMID: 31259088; PMCID: PMC6555253.
12. Davidson CL, Feilzer AJ. Polymerization shrinkage and polymerization shrinkage stress in polymer-based restoratives. *J Dent*. 1997 Nov;25(6):435-40. doi: 10.1016/s0300-5712(96)00063-2. PMID: 9604575.
13. EQUIA Forte Bulk Fill, Fluoride Releasing, Glass Hybrid Restorative System [Internet] [cited 2021 Jan 23]. Available from: http://www.gcamerica.com/products/operator/EQUIA_Forte/
14. Poornima P, Koley P, Kenchappa M, Nagaveni NB, Bharath KP, Neena IE. Comparative evaluation of compressive strength and surface microhardness of EQUIA Forte, resin-modified glass-ionomer cement with conventional glass-ionomer cement. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2019 Jul-Sep;37(3):265-270. doi: 10.4103/JISPPD.JISPPD_342_18. PMID: 31584026.
15. Durmus B, Sezer B, Tugcu N, Caliskan C, Bekiroglu N, Kargul B. Two-year survival of high-viscosity glass ionomer in children with molar incisor hypomineralization. *Med Princ Pract*. 2021;30(1):73-79. doi: 10.1159/000508676. PMID: 32417844; PMCID: PMC7923893.
16. Miletić I, Baraba A, Basso M, Pulcini MG, Marković D, Perić T, et al. Clinical performance of a glass-hybrid system compared with a resin composite in the posterior region: results of a 2-year. Multicenter Study. *J Adhes Dent*. 2020;22(3):235-47. doi: 10.3290/j.jad.a44547. PMID: 32435764.
17. Moshaverinia M, Navas A, Jahedmanesh N, Shah KC, Moshaverinia A, Ansari S. Comparative evaluation of the physical properties of a reinforced glass ionomer dental restorative material. *J Prosthet Dent*. 2019 Aug;122(2):154-9. doi: 10.1016/j.prosdent.2019.03.012. PMID: 31326149.
18. Iftikhar N, Devashish, Srivastava B, Gupta N, Ghambir N, Rashi S. A Comparative evaluation of mechanical properties of four different restorative materials: an in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2019 Jan-Feb;12(1):47-9. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1592. PMID: 31496572; PMCID: PMC6710949.
19. Mazumdar P, Das A, Das UK. Comparative evaluation of microleakage of three different direct restorative materials (silver amalgam, glass ionomer cement, cention N), in Class II restorations using stereomicroscope: An in vitro study. *Indian J Dent Res*. 2019 Mar-Apr;30(2):277-81. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_481_17. PMID: 31169163.

20. Kini A, Shetty S, Bhat R, Shetty P. Microleakage evaluation of an alkasite restorative material: an in vitro dye penetration study. *J Contemp Dent Pract.* 2019 Nov 1;20(11):1315-1318. PMID: 31892684.
21. Punathil S, Almalki SA, AlJameel AH, Gowdar IM, Mc VA, Chinnari K. Assessment of microleakage using dye penetration method in primary teeth restored with tooth-colored materials: an in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2019 Jul 1;20(7):778-82. PMID: 31597795.
22. Meshram P, Meshram V, Palve D, Patil S, Gade V, Raut A. Comparative evaluation of microleakage around Class V cavities restored with alkasite restorative material with and without bonding agent and flowable composite resin: An in vitro study. *Indian J Dent Res.* 2019 May-Jun;30(3):403-7. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_767_17. PMID: 31397416.
23. Ivoclar Vivadent AG [internet]. [cited 2018 May 31]. Available from:<https://www.ivoclarvivadent.com.br/pt-br/p/dentistas/cention-n>
24. Gupta N, Jaiswal S, Nikhil V, Gupta S, Jha P, Bansal P. Comparison of fluoride ion release and alkalizing potential of a new bulk-fill alkasite. *J Conserv Dent.* 2019 May-Jun;22(3):296-9. doi: 10.4103/JCD.JCD_74_19. PMID: 31367117; PMCID: PMC6632620.
25. Singh H, Rashmi S, Pai S, Kini S. Comparative evaluation of fluoride release from two different glass ionomer cement and a novel alkasite restorative material - an in vitro study. *Pesqu Bras Odontopediatria Clín Integr.* 2020; 20:1-6. doi: 10.1590/pboci.2020.019
26. Tiskaya M, Al-Eesa NA, Wong FSL, Hill RG. Characterization of the bioactivity of two commercial composites. *Dent Mater.* 2019 Dec;35(12):1757-68. doi: 10.1016/j.dental.2019.10.004. PMID: 31699444.
27. Ilie N. Comparative effect of self- or dual-curing on polymerization kinetics and mechanical properties in a novel, dental-resin-based composite with alkaline filler. *Materials (Basel).* 2018 Jan 11;11(1):108. doi: 10.3390/ma11010108. PMID: 29324684; PMCID: PMC5793606.
28. Chloe D, Shah HK, Kundoor S, Blake S, Gandhi N, Hatte N. In vitro comparison of flexural strength of cention-N, bulk- fill composites, light-cure nanocomposites and resin-modified glass ionomer cement. *IOSR J Dent Med Sci.* 2018 Oct; 17(10): 79-82. doi: 10.9790/0853-1710087982.
29. Damen JJM, Buijs MJ, ten Cate JM. Uptake and release of fluoride by saliva-coated glass ionomer cement. *Caries Res.* 1996;30(6):454-7. doi: 10.1159/000262359. PMID: 8946104.
30. Cury JA, Tenuta LM. Uso de fluoretos em odontologia restauradora – fundamentado em evidências. In: Baratieri LN, Junior SM, et al.

Odontologia restauradora – fundamentos e possibilidades . 2ª ed. São Paulo: Santos, 2015, p. 53-71.

31. Narvai PC. Cárie dentária e flúor: uma relação do século XX. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2000;5(2):381-92. doi:10.1590/S1413-81232000000200011
32. Jardim J, Maltz M. O papel do flúor no processo de formação e controle da lesão de cárie. *Rev Fac Odontol Porto Alegre*. 2005; 46(1):64-9. doi:10.22456/2177-0018.7644
33. Demarco FF, Freitas JM, Silva MP, Justino LM. Microleakage in endodontically treated teeth: influence of calcium hydroxide dressing following bleaching. *Int Endod J*. 2001 Oct;34(7):495-500. doi: 10.1046/j.1365-2591.2001.00418.x. PMID: 11601765.
34. Piva E, Martos J, Demarco FF. Influência de quatro agentes desinfetantes sobre a microinfiltração de um sistema adesivo. *RPG Rev Pos-Grad*. 1999 jul-set;6(3): 222-8.35.
35. Dummer PM, Edmunds DH, Green RM. Demineralisation of human enamel by *Streptococcus mutans* NCTC 10832 using a sequential batch culture technique. *Caries Res*. 1982;16(2):193-6. doi: 10.1159/000260597. PMID: 7042095.
36. Gilmour SM, Edmunds DH, Dummer PM. The production of secondary caries-like lesions on cavity walls and the assessment of microleakage using an in vitro microbial caries system. *J Oral Rehabil*. 1990 Nov;17(6):573-8. doi: 10.1111/j.1365-2842.1990.tb01428.x. PMID: 2283552.
37. Argenta RMO, Tabchoury CPM, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras*. 2003 Jul-Sep;17(3):241-6. doi: 10.1590/s1517-74912003000300008. Epub 2003 Dec 16. PMID: 14762502.
38. Turssi CP, Lima RQV, Faraoni-Romano JJ, Serra MC. Rehardening of caries-like lesions in root surfaces by saliva substitutes; *Gerodontology*. 2006 Dec;23(4):226-30. doi: 10.1111/j.1741-2358.2006.00117.x. PMID: 17105504.
39. da Silva BM, França FM, Flório FM, Basting RT. In situ anticariogenic effect of adhesive systems containing fluoride and MDPB. *Am J Dent*. 2010 Apr;23(2):75-80. PMID: 20608296.
40. Pedrosa VO, Flório FM, Turssi CP, Amaral FL, Basting RT, França FM. Influence of pH cycling on the microtensile bond strength of self-etching adhesives containing MDPB and fluoride to dentin and microhardness of enamel and dentin adjacent to restorations. *J Adhes Dent*. 2012 Dec;14(6):525-34. doi: 10.3290/j.jad.a25689. PMID: 22724109.

41. Ramos CJ, Rosa LE, Borges Borges AB, Myaki SI. Comportamento do esmalte decíduo após desafio desmineralizante em função do material restaurador. *Clin Pesq Odonto - UNITAU*; 2013; 5(1):16-24.
42. Ramos CJ. Comportamento do esmalte de dentes decíduos após desafio desmineralizante em função de materiais restauradores: estudo ao microscópio de luz polarizada [dissertação]. São José dos Campos (SP). Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2003
43. Cardoso M. Produção e caracterização de lesões artificiais de cárie em esmalte, similares às do protocolo ICDAS II, por biofilme bacteriando de *Streptococcus mutans* [dissertação], Piracicaba (SP): Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2014.
44. Gonzalez E, Yap A, Hsu C-Y. Demineralization inhibition of direct tooth-colored restorative materials. *Oper Dent*. 2004 Sep-Oct;29(5):578-85. PMID: 15470881.
45. Theerarath T, Sriarj W. An alkasite restorative material effectively remineralized artificial interproximal enamel caries in vitro. *Clin Oral Investig*. 2022 Jun;26(6) 4437-45. doi:10.1007/s00784-022-04407-y. PMID: 35190884.
46. Ruengrungsom C, Burrow MF, Parashos P, Palamara JEA. Evaluation of F, Ca, and P release and microhardness of eleven ion-leaching restorative materials and the recharge efficacy using a new Ca/P containing fluoride varnish. *J Dent*. 2020 Nov;102:103474. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103474. PMID: 32941973.
47. Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Improved properties of amorphous calcium phosphate fillers in remineralizing resin composites. *Dent Mater*. 1996 Sep;12(5):295-301. doi: 10.1016/s0109-5641(96)80037-6. PMID: 9170997.
48. Dickens SH, Flaim GM, Takagi S. Mechanical properties and biochemical activity of remineralizing resin-based Ca-PO₄ cements. *Dent Mater*. 2003 Sep;19(6):558-66. doi: 10.1016/s0109-5641(02)00105-7. PMID: 12837405.
49. Navarro MFL, Pascotto RC. Cimentos de ionômero de vidro: aplicações clínicas em odontologia [monografia]. São Paulo (SP):Universidade de São Paulo (USP), A Faculdade de Odontologia de Bauru; 1998
50. Forss H, Seppä L. Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. *Scand J Dent Res*. 1990 Apr;98(2):173-8. doi: 10.1111/j.1600-0722.1990.tb00957.x. PMID: 2111576.

51. Sobh EG, Hamama HH, Palamara J, Mahmoud SH, Burrow MF. Effect of CPP-ACP modified-GIC on prevention of demineralization in comparison to other fluoride-containing restorative materials. *Aust Dent J*. 2022 Sep;67(3):220-229. doi: 10.1111/adj.12904. PMID: 35174511.
52. Buldur M, Sirin Karaarslan E. Microhardness of glass carbomer and high-viscous glass ionomer cement in different thickness and thermo-light curing durations after thermocycling aging. *BMC Oral Health*. 2019 Dec 4;19(1):273. doi: 10.1186/s12903-019-0973-4. PMID: 31801493; PMCID: PMC6894238.
53. Yap AU, Ong JE, Yahya NA. Effect of resin coating on highly viscous glass ionomer cements: A dynamic analysis. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021 Jan;113:104120. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104120. PMID: 33086137.
54. Fuhrmann D, Murchison D, Whipple S, Vandewalle K. Properties of New Glass-Ionomer restorative systems marketed for stress-bearing areas. *Oper Dent*. 2020 Jan/Feb;45(1):104-10. doi: 10.2341/18-176-L. PMID: 31567055.
55. Dasgupta S, Saraswathi M, Somayaji K, Pentapati K, Shetty P. Comparative evaluation of fluoride release and recharge potential of novel and traditional fluoride-releasing restorative materials: An "in vitro" study. *J Conserv Dent*. 2018 Nov-Dec;21(6):622-6. doi: 10.4103/JCD.JCD_338_18. PMID: 30546207; PMCID: PMC6249945.
56. Rifai H, Qasim S, Mahdi S, Lambert MJ, Zarazir R, Amenta F, et al. In-vitro evaluation of the shear bond strength and fluoride release of a new bioactive dental composite material. *J Clin Exp Dent*. 2022 Jan 1;14(1):e55-e63. doi: 10.4317/jced.58966. PMID: 35070125; PMCID: PMC8760968.
57. Xu HH, Weir MD, Sun L, Moreau JL, Takagi S, Chow LC, et al. Strong nanocomposites with Ca, PO(4), and F release for caries inhibition. *J Dent Res*. 2010 Jan;89(1):19-28. doi: 10.1177/0022034509351969. PMID: 19948941; PMCID: PMC3056546.
58. Hsu CY, Donly KJ, Drake DR, Wefel JS. Effects of aged fluoride-containing restorative materials on recurrent root caries. *J Dent Res*. 1998 Feb;77(2):418-25. doi: 10.1177/00220345980770021101. PMID: 9465175.
59. Hicks J, Garcia-Godoy F, Donly K, Flaitz C. Fluoride-releasing restorative materials and secondary caries. *J Calif Dent Assoc*. 2003 Mar;31(3):229-45. PMID: 12693822.
60. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials--fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater*. 2007 Mar;23(3):343-62. doi: 10.1016/j.dental.2006.01.022. PMID: 16616773.

61. Forsten L. Short- and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials in vitro. *Scand J Dent Res.* 1990 Apr;98(2):179-85. doi: 10.1111/j.1600-0722.1990.tb00958.x. PMID: 2111577.
62. Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R, Foye RH. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. *Caries Res.* 1994;28(5):322-8. doi: 10.1159/000261996. PMID: 8001053.
63. Featherstone JD, Glena R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res.* 1990 Feb;69:620-5; 634-6. doi: 10.1177/00220345900690S121. PMID: 2312892.
64. Ten Cate JM, Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991;2(3):283-96. doi: 10.1177/10454411910020030101. PMID: 1892991.
65. 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. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021 Mar;115:104288. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104288. PMID: 33383377.
66. Panpisut P, Toneluck A. Monomer conversion, dimensional stability, biaxial flexural strength, and fluoride release of resin-based restorative material containing alkaline fillers. *Dent Mater J.* 2020 Aug 2;39(4):608-15. doi: 10.4012/dmj.2019-020. PMID: 32037385.
67. Kaur M, Mann NS, Jhamb A, Batra D, A comparative evaluation of compressive strength of Cention N with glass ionomer cement: An in-vitro study. *Int J Appl Dent Sci* 2019;5(1):05-09.
68. Mohamed NI, Safy RK, Elezz AFA. Microtensile bond strength, marginal leakage, and antibacterial effect of bulk fill resin composite with alkaline fillers versus incremental nanohybrid composite resin. *Eur J Dent.* 2021 Jul;15(3):425-432. doi: 10.1055/s-0040-1721310. PMID: 33368067; PMCID: PMC8382449.
69. 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.* 2020;22(1):65-77. doi: 10.3290/j.jad.a43999. PMID: 32030377.
70. Kumari A, Singh N. A comparative evaluation of microleakage and dentin shear bond strength of three restorative materials. *Biomater Investig Dent.* 2022 Feb 10;9(1):1-9. doi: 10.1080/26415275.2022.2033623. PMID: 35174335; PMCID: PMC8843194.

71. Mohammadi N, Kimyai S, Ghavami Lahij Y, Bahari M, Ajami AA, Abed Kahnamouei M, et al. Comparison of the effect of bleaching with 15% carbamide peroxide and 35% hydrogen peroxide on flexural strength of Cention N in selfcured and dual-cured polymerization modes. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2020 Jun 17;14(2):105-9. doi: 10.34172/joddd.2020.023. PMID: 32908651; PMCID: PMC7464230.