

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA MICROINFILTRAÇÃO DE ADESIVO EXPERIMENTAL

Trabalho submetido por
Bárbara Sofia Rodrigues Ruivinho
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

junho de 2024

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA MICROINFILTRAÇÃO DE ADESIVO EXPERIMENTAL

Trabalho submetido por
Bárbara Sofia Rodrigues Ruivinho
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Paulo Maurício

e coorientado por
Prof. Doutor José Reis

junho de 2024

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor Paulo Maurício, por todos os conhecimentos que me transmitiu ao longo destes 5 anos e, em especial, no decorrer deste projeto.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, pela sua formação de excelência e por me tornar Médica Dentista.

Ao meu co-orientador, Prof. Doutor José Reis pelo seu contributo e ajuda durante todo este projeto.

A todos os docentes com os quais me cruzei nesta Instituição, pelos conhecimentos que me transmitiram.

Aos meus pais e avós, pelo carinho incondicional e toda a motivação que me deram ao longo deste percurso.

Ao João, pelo apoio e companhia desde o primeiro ao último dia desta grande etapa das nossas vidas.

A todos os amigos que este instituto me deu, obrigada por tornarem as horas de clínica tão animadas.

Aos amigos de sempre, obrigada também por partilharem este percurso comigo.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a microinfiltração de um adesivo em fase experimental, T1, aplicado como um selante, em dentes humanos.

Materiais e métodos: 20 terceiros molares humanos hígidos e sem contactos oclusais foram usados. Todos os dentes foram desinfetados com peróxido de hidrogénio, curetados os tecidos periodontais aderentes e armazenados numa solução de timol a 4°C. Foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 5 dentes cada. As raízes de todos os dentes foram seladas com verniz. Nos grupos I e III não foi feito condicionamento ácido e o adesivo T1 foi aplicado diretamente nas fissuras. Nos grupos IIA e IVA foi feito condicionamento ácido com ácido ortofosfórico a 37% (3M ESPE) durante 30 segundos, seguido de lavagem com água corrente durante 30 segundos e secagem, de seguida o adesivo T1 foi aplicado. Os grupos I e IIA foram armazenados em água destilada numa estufa de incubação a 37°C (Memmert INE400, Memmert, Germany), durante 24 horas. Os grupos III e IVA foram armazenados na mesma estufa por um período de 1 mês. De seguida, os dentes foram imersos numa solução de fucsina básica durante 24 horas e lavados com água corrente para remover o excesso de corante, secados e incluídos numa resina acrílica transparente autopolimerizável (Clarocit kit, Struers, Denmark). As amostras foram seccionadas longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual com uma espessura de 1 mm e para cada dente foram selecionados 3 cortes. A microinfiltração foi avaliada com ampliação de 20x num estereomicroscópio (SMZ800N, Nikon, Japan) e classificados em 3 categorias: sem microinfiltração, microinfiltração média e microinfiltração total.

Resultados: O grupo III foi o que apresentou maior grau de microinfiltração, ao contrário do grupo I que foi o que apresentou menor percentagem de microinfiltração.

Conclusão: Às 24 horas o tratamento sem condicionamento ácido apresenta melhores resultados enquanto a 1 mês não há diferença significativa entre o tratamento com e sem condicionamento ácido. Aceitam-se as hipóteses alternativas e rejeitam-se as hipóteses nulas, havendo necessidade de reformular o adesivo futuramente.

Palavras-chave: Adesivos; Fissuras; Microinfiltração; Selamento

ABSTRACT

Objective: This study aims to evaluate the microleakage of an experimental adhesive, T1, used as a sealant in human teeth.

Materials and methods: 20 sound human third molars without occlusal contacts, were used. All the teeth were cleaned of periodontal tissues with curettes and stored in a thymol solution at 4°C. They were randomly divided into 4 groups of five teeth each. The roots were sealed with varnish. In group I and III, no acid etching was performed and the T1 adhesive was applied along the fissures. In group IIA and IVA, a 37% orthophosphoric acid (3M ESPE) was applied for 30 seconds, followed by water rinsing for 30 seconds and drying, then the T1 adhesive was applied. Group I and IIA were placed in distilled water and stored in an incubator at 37°C (Mettler INE400, Mettler, Germany) for 24 hours. For group III and IVA they were stored in the same incubator for 1 month. Then the teeth were immersed in basic fuchsin for 24 hours. The samples were washed with running water to remove the excess dye, dried and immersed in a transparent self-polymerizing acrylic resin (Clarocit kit, Struers, Denmark). The samples were sectioned longitudinally in buccolingual direction to obtain 1 mm slices and for each tooth 3 slices were selected. The microleakage was evaluated using a 20x magnification under a stereomicroscope (SMZ800N, Nikon, Japan) and classified in three categories: no microleakage, medium microleakage and full microleakage.

Results: Group III presented the highest degree of microleakage as opposed to group I which had the lowest percentage of microleakage.

Conclusion: At 24 hours, the treatment without acid etching shows better results, while after 1 month there is no significant difference between the treatments with and without acid etching. The alternative hypotheses are accepted, and the null hypotheses are rejected, indicating the need to reformulate the adhesive in the future.

Keywords: Adhesives; Fissures; Microleakage; Sealing. ~

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	15
1. ESTRUTURAS DENTÁRIAS.....	16
1.1. Esmalte	17
2. CÁRIE DENTÁRIA.....	19
2.1. Cáries de fissuras e fossas	20
3. ADESÃO	21
3.1. Adesão ao esmalte.....	22
4. SELANTES DE FISSURA.....	22
4.1. Selantes Resinosos	24
4.2. Cimentos de Ionómero de vidro	24
4.3. Selantes Resinosos Modificados por Poliácidos	25
5. INFILTRAÇÃO.....	25
5.1. Microinfiltração	25
5.2. Estudos de microinfiltração	26
5.3. Nanoinfiltração	27
II. OBJETIVOS	28
III. HIPÓTESES	29
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	31
1. MATERIAIS	31
1.1 Materiais utilizados para preparação das amostras	31
1.2. Equipamentos de laboratório	33
2. MÉTODOS.....	33
2.1. Preparação das amostras	33
2.2. Aplicação do adesivo	35
2.3. Infiltração de corante	37
2.4. Avaliação da microinfiltração	39
2.5. Análise estatística.....	42
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
1. Resultados	43
2. Discussão	49
VI. CONCLUSÕES.....	53
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1: Estruturas do dente. Corte sagital de molar inferior.</i>	17
<i>Figura 2: Ilustração dos fatores de risco associados à cárie dentária. Adaptado de: Selwitz et al., 2007</i>	20
<i>Figura 3: Classificação de fissuras e fossas. Adaptado de: Avinash et al., 2010</i>	21
<i>Figura 4: Classificação de selantes de fissura. Adaptado de: Naaman et al., 2017</i>	23
<i>Figura 5: Adesivo experimental T1</i>	31
<i>Figura 6: Reagente A</i>	31
<i>Figura 7: Ácido ortofosfórico (3M ESPE™)</i>	31
<i>Figura 8: Fucsina básica a 0,5%</i>	32
<i>Figura 9: ClaroCit Kit™</i>	32
<i>Figura 10: Cureta Gracey (ASA Dental™)</i>	32
<i>Figura 11: Isomet™</i>	32
<i>Figura 12: Estufa de incubação</i>	33
<i>Figura 13: Micrótomo tecidos duros</i>	33
<i>Figura 14: Estereomicroscópio</i>	33
<i>Figura 15: Dentes pré curetagem</i>	34
<i>Figura 16: Curetagem dos tecidos aderentes</i>	34
<i>Figura 17: Dentes pós curetagem</i>	34
<i>Figura 18: Selamento das raízes com verniz</i>	35
<i>Figura 19: Dentes pós selamento</i>	35
<i>Figura 20: Mistura do adesivo com o reagente A, conforme indicações do fabricante</i>	35
<i>Figura 21: Aplicação do adesivo T1 nos grupos I e III</i>	36
<i>Figura 22: Imagem representativa do condicionamento ácido nos grupos IIA e IVA</i>	36
<i>Figura 23: Grupos IIA e IVA pós condicionamento ácido</i>	36
<i>Figura 24: Aplicação do adesivo T1 nos grupos IIA e IVA</i>	37
<i>Figura 25: Grupos I, IIA, III e IVA armazenados em água destilada</i>	37
<i>Figura 26: Grupos III e IVA na estufa de incubação a 37°C, durante 1 mês</i>	38
<i>Figura 27: Grupos I e IIA numa solução preparada de fucsina básica a 0,5%</i>	38
<i>Figura 28: Grupos III e IVA numa solução preparada de fucsina básica a 0,5%</i>	38
<i>Figura 29: Grupos I e IIA inseridos na resina acrílica</i>	39
<i>Figura 30: Cortes dos dentes do grupo I</i>	40
<i>Figura 31: Cortes dos dentes do grupo IIA</i>	40
<i>Figura 32: Cortes dos dentes do grupo III</i>	40
<i>Figura 33 : Cortes dos dentes do grupo IVA</i>	40
<i>Figura 34: Imagem representativa de classificação 1 de microinfiltração. Observação feita numa ampliação de 20x</i>	41
<i>Figura 35: Imagem representativa da classificação 2 de microinfiltração. Observação feita numa ampliação de 20x</i>	41
<i>Figura 36: Imagem representativa da classificação 3 de microinfiltração. Observação feita numa ampliação de 20x</i>	42

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1: Materiais utilizados na investigação.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabela 2: Equipamentos de laboratório utilizados na investigação</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 3: Características dos grupos experimentais</i>	<i>34</i>
<i>Tabela 4: Associações parciais para tempo, tratamento e classificação</i>	<i>45</i>
<i>Tabela 5: Estimativas de parâmetros para modelo hierárquico</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 6: Tabela de contingência da classificação e tratamento às 24 horas.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 7: Tabela de contingência da Classificação e Tratamento a 1 mês</i>	<i>47</i>
<i>Tabela 8: Tabela de contingência da Classificação e Tempo sem tratamento com ácido</i>	<i>47</i>
<i>Tabela 9: Tabela de contingência da Classificação e Tempo com tratamento com ácido.....</i>	<i>48</i>

ÍNDICE DE GRÁFICOS

<i>Gráfico 1: Contagem (N) de microinfiltração</i>	<i>43</i>
<i>Gráfico 2: Percentagem de microinfiltração</i>	<i>44</i>

LISTA DE SIGLAS

°C – graus celsius

pH – potencial de hidrogénio

µm – micrómetro

nm – nanómetro

I. INTRODUÇÃO

As doenças orais afetam cerca de 3,5 mil milhões de pessoas em todo o mundo, segundo o estudo de Carga de Doença Global realizado em 2015 pelo Instituto de Métrica e Avaliação em Saúde da Universidade de Washington, sendo a doença mais prevalente a cárie dentária que atinge durante a dentição permanente 2,5 mil milhões de adolescentes e adultos e na dentição decídua 573 milhões de crianças (Kassebaum et al., 2017).

A incidência da cárie dentária está diretamente relacionada com o tipo de superfície dentária e como tal, as superfícies oclusais apresentam um risco de desenvolver cárie superior às superfícies dentárias lisas (Singh et al., 2022).

Devido à sua estrutura anatómica, as fissuras e fossas dos dentes posteriores retêm restos alimentares, potencialmente cariogénicos e bactérias, o que conduz a uma progressiva e irreversível destruição dos tecidos dentários duros. Desta forma, foram desenvolvidos métodos de prevenção que permitissem o seu selamento do meio oral. Inicialmente eram utilizados cimentos de fosfato de zinco, restaurações profiláticas ou tratamentos químicos à base de nitrato de prata. Mais tarde estes métodos foram substituídos pelos cimentos de ionómero de vidro e de resinas (Cvikl et al., 2018; Zhou et al., 2023).

Segundo a *American Dental Association* (ADA) é recomendado o uso de selantes para as fissuras e fossas de molares decíduos e pré-molares e molares definitivos, formando uma barreira física na superfície do dente. A aplicação de selantes pode ser considerada uma prevenção primária, pois previne o aparecimento de lesões de cárie, ou uma prevenção secundária, pois impede a progressão de lesões de cárie não cavitadas (Wright et al., 2016).

A eficácia clínica do selante depende da sua retenção no sistema fissurário o que está diretamente relacionado com a morfologia das fissuras, o isolamento correto da superfície em que é aplicado, as propriedades do material de selamento escolhido e a respetiva técnica de aplicação. Para além disso, um importante fator de sucesso é a manutenção da integridade marginal em torno do selante, impedindo que haja a passagem de fluidos orais e bactérias, provocando a microinfiltração (Dixit et al., 2021).

Apesar da eficácia comprovada e do efeito preventivo no aparecimento de cáries dentárias, o uso de selantes é ainda considerado abaixo do que se pretende (Farci et al., 2017).

1. ESTRUTURAS DENTÁRIAS

O dente divide-se em duas porções principais, a coroa e a raiz. A linha cervical do dente marca a transição da coroa para a raiz. A coroa é a porção que emerge do osso alveolar e é constituída apenas por tecido duro, enquanto, a raiz permite a ancoragem do dente no osso alveolar e o aporte de vasos sanguíneos e fibras nervosas através do foramén apical (Farci & Soni, 2023).

Quanto à sua constituição, o dente é composto pelo esmalte, pelo complexo pulpo-dentinário e pelo cimento. Cada uma destas estruturas apresenta características próprias sendo descritas separadamente (figura1)(Ritter et al., 2019; Boushell & Sturdevant, 2019).

O esmalte é a camada que cobre a coroa anatómica do dente e forma uma barreira isolante contra o desgaste que afeta a coroa dentária. A sua composição é maioritariamente inorgânica, tornando-o um tecido muito resistente (Lacruz et al., 2017; Ritter et al., 2019; Boushell & Sturdevant, 2019).

A dentina é o tecido que ocupa mais volume no dente e forma uma camada protetora da polpa. É revestida pelo esmalte na porção coronária e por cimento na porção radicular. A camada dentinária resulta de diferentes tipos de dentina com diferentes funções. É constituída por cristais de hidroxiapatite inorgânicos embebidos numa matriz orgânica de fibras de colagénio (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996; Goldberg et al., 2012).

A polpa é descrita como um tecido conjuntivo laxo constituído por 75% de água e 25% de matéria orgânica, maioritariamente fibras de colagénio. Tem como principais funções a formação da dentina primária e secundária, a nutrição dos tecidos dentários pois garante a vascularização dos mesmos, sensorial através das fibras nervosas e proteção, respondendo a estímulos inflamatórios através do sistema circulatório e linfático (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996).

O cimento é uma fina camada que reveste a porção radicular do dente e apresenta composições diferentes consoante a localização. No terço coronal predomina cimento acelular e no terço médio e apical observa-se cimento celular constituído por cementócitos e fibras de colagénio. A sua principal função é conferir a ancoragem do dente, devido à sua elevada flexibilidade (Riethe, 1990).

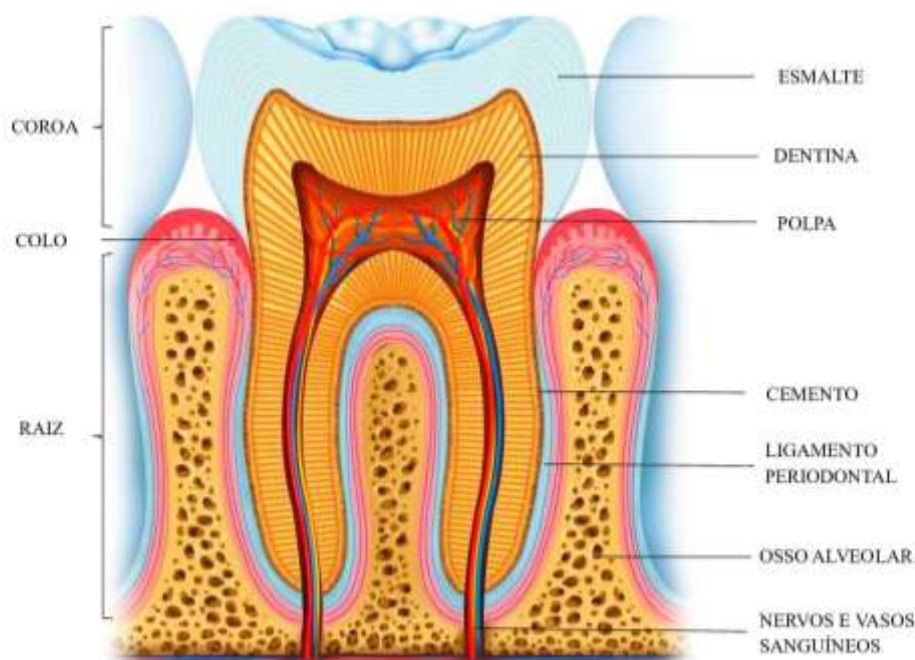


Figura 1: Estruturas do dente. Corte sagital de molar inferior.

1.1.Esmalte

O esmalte é o tecido mais duro do corpo humano e funciona como a camada protetora da coroa dentária, sendo resistente às forças físicas, químicas e térmicas que atingem a coroa e danificam o tecido vital subjacente (Lacruz et al., 2017).

Quando atinge a maturidade, a sua composição torna-se maioritariamente matéria inorgânica, ocupando cerca de 90% do seu volume. É também constituída por uma pequena percentagem de matriz orgânica e água que varia entre 4 a 12% do seu volume e ocupa os espaços existentes entre os cristais de hidroxiapatite (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996).

Este arranjo cristalino permite que a superfície do esmalte seja microporosa promovendo a nível externo a comunicação com a cavidade oral e, internamente, com a dentina e a polpa através dos túbulos dentinários presentes na dentina. Desta forma, quando há desidratação do esmalte, seja devido a respiração oral noturna ou a tratamentos dentários que exijam o uso de isolamento absoluto, a perda de água através das microporosidades confere ao esmalte uma cor mais clara e opaca, o que é facilmente reversível pelo ambiente húmido da cavidade oral (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996).

O esmalte apresenta propriedades óticas únicas que derivam da sua estrutura e composição. Assim sendo, qualquer defeito no seu desenvolvimento ou alteração ambiental que altere a sua estrutura manifesta-se na opacidade e cor do esmalte (Lacruz et al., 2017).

A cor do esmalte depende em primeiro lugar da sua espessura e da cor da camada subjacente de dentina. A espessura varia de área para área, sendo máxima na região oclusal e incisal da coroa, diminuindo progressivamente até à junção amelo-cementária. Para além disso varia também de dente para dente, sendo aproximadamente 2 mm nos bordos incisais dos incisivos, entre 2,3 a 2,5 mm nas cúspides dos pré-molares e 2,5 a 3 mm nas cúspides dos molares. A porção incisal dos dentes anteriores apresenta uma cor mais acinzentada ou levemente azulada translúcida enquanto na porção cervical esta torna-se progressivamente mais opaca e amarelada ou alaranjada devido ao substrato de dentina e à fina camada de esmalte nesta região (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996; Ritter et al., 2019; Boushell & Sturdevant, 2019).

A amelogenese é o processo através do qual se dá a formação de esmalte pelos ameloblastos. Em primeiro lugar, dá-se a formação da matriz orgânica, composta por glicoproteínas, nomeadamente, amelogeninas e não amelogeninas, como as enamelinas e ameloblastinas. Posteriormente esta matriz é parcialmente metabolizada pelos ameloblastos em iões de cálcio e de fósforo, que iniciarão o seu processo de cristalização (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996; Ritter et al., 2019; Boushell & Sturdevant, 2019).

No que toca à estrutura, a unidade principal do esmalte são os prismas de esmalte. Estes resultam da deposição simétrica e incremental do esmalte durante a sua formação. Qualquer variação na mineralização resulta em regiões denominadas por estrias de Retzius que se formam durante a amelogenese. A densidade de prismas de esmalte existentes em cada dente varia de 5 milhões nos incisivos inferiores até 12 milhões nos molares superiores (Ritter et al., 2019; Boushell & Sturdevant, 2019).

Os prismas de esmalte apresentam um formato peculiar, sendo comparados com uma fechadura, em que a cabeça da fechadura representa o esmalte prismático e a cauda, o esmalte interprismático. Desta forma, o esmalte prismático resulta da deposição paralela dos cristais de hidroxiapatite entre si e paralelos ao longo eixo do prisma, enquanto o esmalte interprismático resulta de uma orientação dos cristais de 65° em relação ao longo eixo dos prismas. Os prismas podem estar ausentes no esmalte mais externo ou também

denominado por esmalte aprismático (Schwartz et al., 1996; Nicholson, 1996; Baratieri et al., 2004; Gwinnett, 2004).

2. CÁRIE DENTÁRIA

A cárie dentária define-se como uma doença de etiologia multifatorial, provocada primariamente por um desequilíbrio da flora bacteriana oral (Ritter et al., 2019; Zandoná et al., 2019).

É considerada a doença crónica mais prevalente em todo o mundo e constitui a causa primária de dor e perda dentária, podendo ser detetada e revertida nos estádios iniciais (Selwitz, 2007).

O aparecimento e desenvolvimento da cárie depende de quatro principais fatores: a suscetibilidade do hospedeiro, a dieta, a presença de placa dentária e o tempo (figura 2) (Schwartz & Hilton, 1996).

Os tecidos dentários são superfícies sólidas ideais para a colonização do biofilme, que necessita de quantidades apropriadas de água e nutrientes para se desenvolver. As bactérias do biofilme são microorganismos metabolicamente ativos que provocam variações no pH e podem resultar na desmineralização e posterior cavitação dos tecidos dentários. O biofilme tem tendência a acumular-se nas superfícies oclusais, principalmente durante a erupção dentária, nas superfícies proximais, junto ao ponto de contacto entre dentes adjacentes, e ao longo da margem gengival (Kidd & Fejerskov, 2004).

O processo carioso ocorre pela presença de bactérias cariogénicas, das quais se destacam os *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*. Estas bactérias, como resultado do metabolismo dos hidratos de carbono, produzem matéria orgânica ácida, que promove uma diminuição do pH local e posterior desmineralização do substrato dentário (Selwitz, 2007).

A desmineralização pode ser revertida na fase inicial através da absorção de cálcio, fosfato e flúor. O flúor funciona como um catalisador e acelera a difusão de cálcio e fosfato permitindo a remineralização das estruturas cristalinas, formando-se fluoroapatite e hidroxiapatite fluoretada, que são estruturas mais resistentes ao ataque ácido do que as originais (Selwitz, 2007).

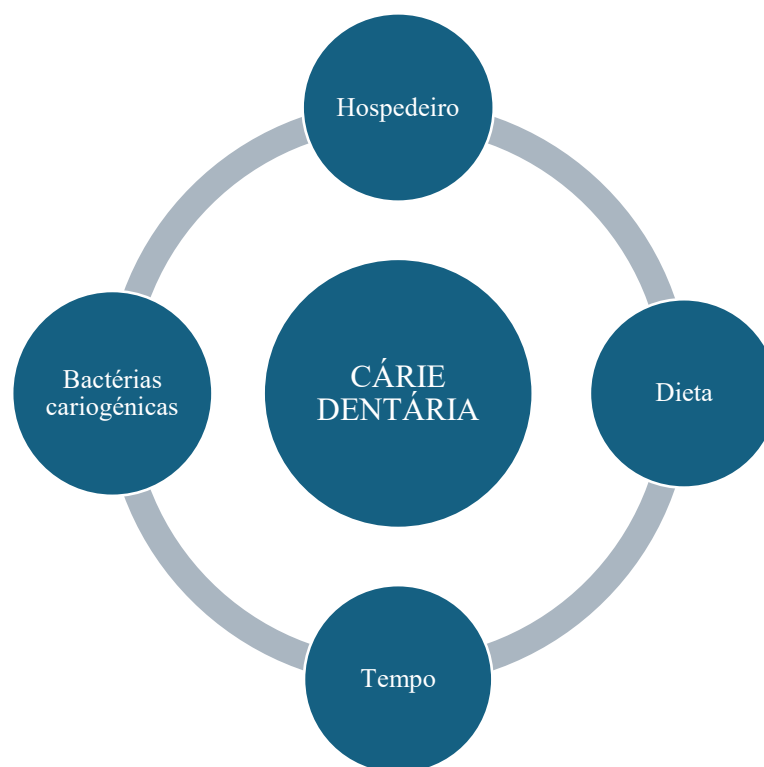


Figura 2: Ilustração dos fatores de risco associados à cárie dentária. Adaptado de: Selwitz et al., 2007

2.1.Cáries de fissuras e fossas

As cáries de fissuras e fossas expressam-se em percentagens elevadas nos dias de hoje traduzindo-se em 90% das cáries encontradas nos dentes posteriores definitivos e 44% das cáries de dentes decíduos em crianças e adolescentes (Naaman, et al., 2017).

Este tipo de cáries está maioritariamente associado a áreas de incompleta coalescência do esmalte. As áreas mais afetadas são as faces oclusais dos dentes posteriores, as faces linguais dos dentes anteriores superiores e as fossas vestibulares dos molares inferiores. A sua deteção radiográfica muitas vezes só é possível quando estas são já extensas e se encontram perto da junção amelo-dentinária, surgindo com forma de meia-lua radiotransparente (Schwartz et al., 1996; Davis, 1996).

De acordo com a classificação de Nagano existem cinco principais formas de fissuras e fossas: U, V, I, IK e Y. Salman conduziu um estudo que indicou que as formas em V e IK são as que apresentam maior percentagem de cárie dentária, enquanto, o formato em I é o que apresenta menor percentagem. Concluiu-se também que as fissuras em V e U estão associadas a cáries menos severas em comparação com os restantes (figura 3) (Salman, 2011; Altaf et al., 2019; Avinash et al., 2010).

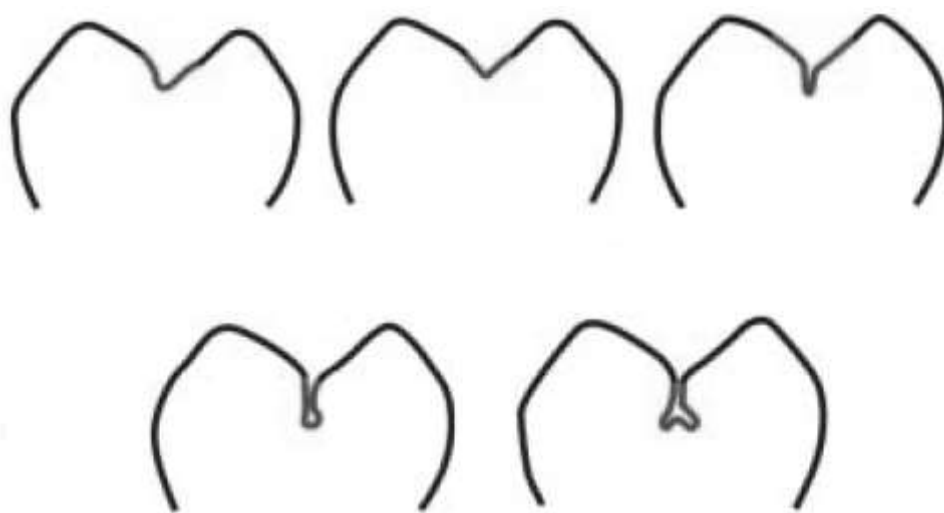


Figura 3: Classificação de fissuras e fossas. Adaptado de: Avinash et al., 2010

3. ADESÃO

O conceito de adesão resume-se a interações moleculares entre dois materiais, o que resulta na formação de uma interface, sendo para isso necessário um substrato e um adesivo. A coesão envolve atrações moleculares entre átomos e moléculas semelhantes e é frequentemente considerada como a força coesiva de um determinado material ou tecido (Marshall et al., 2009).

A adesão ou coesão de um determinado material pode ser classificada como física, química e/ou mecânica. A adesão física é geralmente considerada a mais fraca, enquanto a adesão química, apesar de mais forte, resulta em forças difíceis de reproduzir. A adesão mecânica é, então, a mais efetiva no que toca a criar ligações moleculares fortes (Marshall et al., 2009).

Para uma eficiente adesão e maior durabilidade das forças adesivas e coesivas, a superfície do dente deve ser previamente limpa e preparada, de modo a aumentar a energia de superfície para a receção do adesivo, para além disso são recomendados adesivos de baixa viscosidade e relativamente fluidos, de modo a adaptarem-se à superfície aderente durante o tempo útil de aplicação e apresentarem um grau de conversão adequado, pois uma das principais limitações é o difícil acesso aquando da polimerização dos adesivos. Devido à distinta composição e estrutura do esmalte e da dentina, a adesão nestes dois tecidos dentários apresenta comportamentos diferentes (Schwartz et al., 1996; Meerbeek et al., 1996; Marshall et al., 2009).

3.1. Adesão ao esmalte

Segundo Lee & Swartz um dos critérios para uma boa adesão entre o substrato e o material adesivo é a superfície dentária ser lisa e uniforme e estar descontaminada (Baratieri, 2004; Gwinnett, 2004).

Buonocore, em 1955, tornou-se pioneiro no uso de ácido para condicionamento do esmalte e desde aí várias concentrações de ácido fosfórico têm sido testadas, sendo a concentração de 37% a mais utilizada. No que toca ao tempo de condicionamento recomendado vários estudos *in vitro* demonstraram forças adesivas e níveis de infiltração semelhantes para 15 e 60 segundos de condicionamento ácido (Buonocore, 1955; Perdigão et al., 2019; Ritter et al., 2019).

A adesão ao esmalte ocorre por retenção micromecânica, através do condicionamento ácido do substrato dentário, maioritariamente inorgânico. O ácido em contacto com o esmalte remove aproximadamente 10 µm da superfície do esmalte, transformando a sua superfície lisa numa superfície irregular e microporosa, com um aumento da energia de superfície para quase três vezes mais do que seria sem o condicionamento ácido (Baratieri, 2004; Gwinnett, 2004; Lopes et al., 2007; Alkattan, 2023).

A desmineralização provocada pelo condicionamento ácido é seletiva, sendo que em determinadas regiões do esmalte esta poderá ser mais intensa do que em outras. Este fenómeno ocorre devido à diferente angulação dos prismas de esmalte (Lopes et al., 2007)

Quando aplicado o material resinoso este penetra nas microporosidades do esmalte formando prolongamentos de resina, que se designam por *microtags* que após polimerizarem constituem o principal mecanismo de adesão ao esmalte (Lopes et al., 2007; Ritter et al., 2019).

De modo a garantir que não há contaminação do substrato e uma boa adesão ao esmalte deve ser utilizado isolamento absoluto ou relativo. Se ocorrer contaminação é necessário aplicar novamente o agente de condicionamento (Baratieri, 2004; Gwinnett, 2004).

4. SELANTES DE FISSURA

O termo selantes de fissura refere-se a um material que é aplicado na face oclusal, sobre as fissuras e fossas dos dentes suscetíveis à cárie dentária, formando uma camada protetora, através de adesão micromecânica das bactérias cariogénicas (Simonsen, 2002).

No passado, até ao aparecimento dos selantes, existiram vários métodos com o objetivo de proteger o sistema fissurário dos dentes e evitar o aparecimento de cáries. Procedimentos como a fissurotomia, que consistia no alargamento das fissuras, de modo a transformar fissuras profundas e complexas em fissuras mais fáceis de higienizar e o uso de nitrato de prata, foram ambas ineficazes e substituídas por outros métodos. Em 1923, Hyatt introduziu uma alternativa mais invasiva que permaneceu como o tratamento preferencial dos profissionais até aos anos 70 e consistia na realização de uma preparação de classe I que se engloba todas as fissuras e fossas do dente e uma posterior restauração profilática (Naaman et al., 2017).

Nos anos 60, Buonocore e Cueto vieram a desenvolver o primeiro selante. O acondicionamento ácido resultava de ácido ortofosfórico a 50% tamponado com óxido de zinco a 7%, o selante era composto por uma mistura de monómero de metilmetacrilato e o pó dos cimentos de silicato. No follow-up de 1 ano foi reportada a diminuição de 87% da incidência de cáries e 71% de retenção do selante (Simonsen, 2002).

Quanto ao tipo de material, os selantes são classificados em três tipos diferentes: selantes de resina, selantes de cimento de ionómero de vidro e selantes de resina modificados por poliácidos. Os mais comercializados são os selantes resinosos e os cimentos de ionómero de vidro (figura 4) (Naaman et al., 2017).

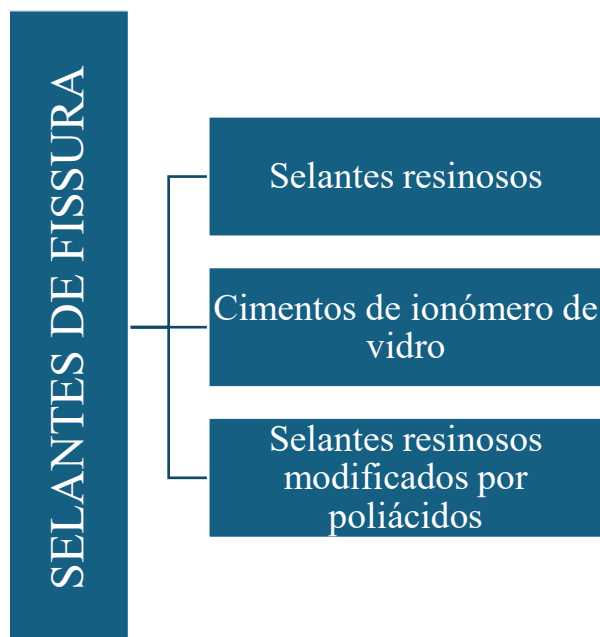


Figura 4: Classificação de selantes de fissura. Adaptado de: Naaman et al., 2017

4.1. Selantes Resinosos

Os selantes à base de resina são os mais utilizados na prática clínica como materiais de selamento. São, geralmente, compostos por uma matriz resinosa, diluentes, iniciadores e materiais auxiliares como solventes e flúor (Zhou et al., 2023).

Quanto à sua classificação são divididos em quatro gerações. A primeira geração correspondia a selantes de polimerização por raios ultravioleta, sendo o Nuva-Seal® (LD. Caulk Co.: Milford, DE, USA) o primeiro a ser comercializado. Este tipo de selantes deixaram de ser utilizados, surgindo uma segunda geração que se refere aos selantes resinosos auto-polimerizáveis, que apresentam na sua composição uma amina terciária que atua como um ativador que ao reagir com o iniciador, presente na composição dos selantes, produz radicais livres, dando início à polimerização (Moore, 2000; Craig et al., 2002; Naaman et al., 2017).

Atualmente, os selantes autopolimerizáveis foram substituídos pelos fotopolimerizáveis ou polimerizáveis por luz visível. Neste tipo de selantes, a luz visível ativa fotoiniciadores, presentes na composição dos selantes, que são sensíveis a comprimentos de onda em torno dos 470 nm. A quarta geração são os selantes resinosos com flúor que resultam da junção dos selantes autopolimerizáveis com partículas libertadoras de flúor. Segundo a literatura, não houve benefícios clínicos em relação aos autopolimerizáveis pois a libertação de flúor não ocorre a longo prazo (Naaman et al., 2017).

Os selantes resinosos podem também ser classificados quanto ao tipo de polimerização, translucidez e viscosidade. Quanto à polimerização podem ser divididos em autopolimerizáveis, que resulta da mistura de dois componentes e a reação ocorre por si só ou fotopolimerizáveis, ocorrendo a reação pela exposição à luz visível. Os selantes de luz ultravioleta foram descontinuados. No que toca à translucidez podem ser opacos ou transparentes e apresentarem diversas cores, nomeadamente, branco que são mais simples de detetar, mais rosados ou semelhantes à cor do dente (Simonsen, 2002; Naaman et al., 2017).

4.2. Cimentos de Ionómero de vidro

Os selantes à base de ionómero de vidro são cimentos que apresentam propriedades vantajosas ao seu uso, destacando-se a libertação de flúor. A adesão ao esmalte e à dentina ocorre por uma reação ácido-base, decorrente da mistura do pó composto por

fluoroaluminossilicato e uma solução aquosa de ácido poliacrílico (Wright et al., 2016; Naaman, 2017).

Ao longo dos anos, vários estudos compararam a eficácia dos cimentos de iónomero de vidro com os selantes resinosos, em que apesar de haver libertação de flúor nos cimentos de iónomero de vidro, não há estudos que comprovem a maior eficácia dos mesmos, revelando até menor retenção deste tipo de selantes em comparação com os selantes resinosos. No entanto, apesar de menor retentivos os cimentos à base de iónomero de vidro não apresentam diferenças significativas no que toca à prevenção de cáries. (Forss & Halme, 1998; Simonsen 2002; Markovic et al., 2018).

4.3.Selantes Resinosos Modificados por Poliácidos

Os selantes resinosos modificados por poliácidos ou também designados por compómeros na literatura, reúnem as propriedades mais vantajosas dos selantes resinosos e dos cimentos de iónomero de vidro (Puppin-Rontani et al., 2006).

São polimerizados por luz visível, tal como os selantes resinosos, e libertadores de flúor, tal como os cimentos de iónomero de vidro (Naaman et al., 2017).

Quando comparados com os convencionais cimentos de iónomero de vidro, apresentam maior adesão ao esmalte e à dentina e menor solubilidade em contacto com água. A técnica de aplicação é também mais simples do que os selantes resinosos. A principal desvantagem prende-se com a menor libertação de flúor em comparação com os cimentos (Puppin-Rontani et al., 2006; Naaman et al., 2017).

5. INFILTRAÇÃO

Um dos principais requisitos no que toca à preservação do tratamento restaurador ou preventivo é o selamento das margens e da ausência de infiltração (Orłowski, 2015).

Existem diferentes níveis de infiltração, podendo esta ser clinicamente detetável ou indetetável a olho nu e diferentes terminologias dividindo-se principalmente em microinfiltração e nanoinfiltração (Fabianelli, 2007).

5.1.Microinfiltração

A microinfiltração constitui o principal desafio da dentisteria conservadora e da endodontia e representa repercussões a longo prazo para a viabilidade dentária (Singh, 2023).

O conceito de microinfiltração define-se como a passagem de fluidos orais, bactérias, iões e moléculas entre o dente e o material restaurador (Kidd, 1976).

Esta passagem de microorganismos geralmente ocorre por contaminação externa, através de fendas marginais presentes à superfície do dente, no entanto, este processo pode ocorrer também internamente (Fabianelli, 2007; AlHabdan, 2017).

Clinicamente, a microinfiltração é indetetável a olho nu, no entanto, está associada a uma variedade de modificações que ocorrem à superfície do dente como, a pigmentação marginal, descoloração dentária, hipersensibilidade pós-operatória, perda de retenção do material restaurador e, conseqüentemente, o aparecimento de cáries recorrentes e patologias de envolvimento pulpar, como pulpíte ou necrose pulpar (Fabianelli, 2007).

Os principais fatores que contribuem para a microinfiltração são a contração de polimerização, a absorção de água, a contração térmica, o *stress* mecânico, alterações na anatomia dentária e as forças oclusais. Após a polimerização do material restaurador este contrai, o que cria *stress* nas margens da restauração e conseqüente leva à formação de fendas. Para além disso, a adaptação de qualquer restauração depende do formato da cavidade e do número de paredes aderidas, o chamado fator C. O coeficiente de expansão térmica é também um fator que contribui para a microinfiltração, dado que este coeficiente para o esmalte ou para a dentina é significativamente inferior quando comparado com o coeficiente das resinas compostas (Fabianelli, 2007; Khoroushi & Ehteshami, 2016).

5.2. Estudos de microinfiltração

Os estudos de microinfiltração classificam-se como *in vivo* ou *in vitro*, sendo este último o mais utilizado, por ser menos dispendioso, mais rápido e não exigir aprovação ética (Fabianelli, 2007; AlHabdan, 2017).

Existem vários tipos de estudos que permitem avaliar a microinfiltração, dos quais se destacam o método de infiltração de corantes, a observação por estereomicroscópio ou a observação por microscópio eletrónico de varredura (Singh, 2023).

Na técnica por infiltração de corantes são utilizados dois corantes principais, o azul de metileno, a 1, 2 ou 5%, fucsina básica, a 0,5% ou nitrato de prata a 50%. As amostras são submersas numa solução concentrada com um dos corantes anteriormente mencionados e são posteriormente observadas as regiões que ficaram coradas (AlHabdan, 2017).

Esta técnica é a mais utilizada e apresenta vantagens em relação às restantes, sendo que não utiliza químicos radioativos, nem há libertação de radiação, para além é facilmente reproduzível, existindo vários corantes disponíveis (Orłowski, 2015; AlHabdan, 2017).

As principais limitações destes estudos devem-se à falta de standards entre estudos, à limitada amostra e à presença de termociclagem. O uso de termociclagem neste tipo de testes é controverso e há autores que defendem que há um aumento da microinfiltração devido ao stress térmico. Para além disso, o tamanho das partículas dos corantes, cuja área é de $0,52 \mu\text{m}^2$, é menor do que o tamanho médio das bactérias, cujo diâmetro varia dos 0,3 a $1,5 \mu\text{m}$, aumentando erradamente os resultados (Fabianelli, 2007).

A principal limitação deste tipo de estudos é a falta de um protocolo *standard* e a curta amostra utilizada. Na literatura atual verificam-se estudos *in vitro* com grupos de 10 a 12 amostras, o que pode afetar os resultados estatísticos disponíveis (AlHabdan, 2017).

Deste modo é importante que em estudos futuros haja uma amostra alargada e grupos de controlo apropriados, de modo a obter resultados mais confiáveis e estudos com maior relevância clínica (Singh, 2023).

5.3.Nanoinfiltração

A nanoinfiltração define-se como a presença de fluidos entre a dentina e o material restaurador (AlHabdan, 2017).

É descrita como uma infiltração interna que ocorre pela existência de espaços com dimensões nanométricas em torno das fibras de colagénio da camada híbrida. Estas porosidades estimam-se que variem dos 20 aos 100nm e ocorrem ou por uma fraca polimerização da resina ou por regiões em que a resina está ausente (Arslan et al., 2018).

Apesar de ainda não existirem estudos claros que demonstrem o impacto negativo dos efeitos da nanoinfiltração, esta tem um forte potencial de a longo prazo afetar a qualidade da camada híbrida e, conseqüentemente, a capacidade de selamento do material restaurador (Yang et al., 2015; AlHabdan, 2017; Arslan et al., 2018).

II. OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivo avaliar a microinfiltração de um adesivo em fase experimental, T1, aplicado como selante, em dentes humanos.

III. HIPÓTESES

Hipótese nula: O adesivo experimental após polimerização de 24 horas não infiltra.

Hipótese nula: O adesivo experimental após polimerização de 1 mês não infiltra.

Hipótese nula: O adesivo experimental com condicionamento ácido após polimerização de 24 horas não infiltra.

Hipótese nula: O adesivo experimental com condicionamento ácido após polimerização de 1 mês não infiltra.

Hipótese alternativa: O adesivo experimental após polimerização de 24 horas apresenta infiltração.

Hipótese alternativa: O adesivo experimental após polimerização de 1 mês apresenta infiltração.

Hipótese alternativa: O adesivo experimental com condicionamento ácido após polimerização de 24 horas apresenta infiltração.

Hipótese alternativa: O adesivo experimental com condicionamento ácido após polimerização de 1 mês apresenta infiltração.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1. MATERIAIS

1.1 Materiais utilizados para preparação das amostras

Tabela 1: Materiais utilizados na investigação

Material	Nome fabricante	Classificação/ Composição	Imagens
Adesivo T1	Confidencial	Confidencial	 <i>Figura 5: Adesivo experimental T1</i>
Reagente A	Confidencial	Catalisador à base de água	 <i>Figura 6: Reagente A</i>
Ácido ortofosfórico	Scotchbond Universal Etchant™ (3M ESPE)	Ácido ortofosfórico a 37%	 <i>Figura 7: Ácido ortofosfórico (3M ESPE™)</i>

Corante	Preparado à base de fucsina	Fucsina básica 0,5%	 <i>Figura 8: Fucsina básica a 0,5%</i>
Resina acrílica	ClaroCit Kit™ (Struers A/S, Denmark)	800g de pó e 500 ml de líquido	 <i>Figura 9: ClaroCit Kit™</i>
Curetas periodontais	ASA Dental™, (Lucca, Italy)	Curetas Gracey	 <i>Figura 10: Cureta Gracey (ASA Dental™)</i>
Lâmina diamantada	Isomet™, (Buehler, Evanston, IL, USA).	Lâmina diamantada a baixa rotação	 <i>Figura 11: Isomet™</i>

1.2. Equipamentos de laboratório

O equipamento utilizado encontra-se no laboratório de Biomateriais e no laboratório de Ciências Farmacêuticas.

Tabela 2: Equipamentos de laboratório utilizados na investigação

Equipamento	Marca	Modelo
Estufa de incubação	Memmert®; Germany	INE 400
Micrótomo de tecido duros	Struers™; Copenhagen, Denmark	Accutom-50
Estereomicroscópio	Nikon™; Tokyo, Japan	SMZ800N



Figura 12: Estufa de incubação

Figura 13: Micrótomo tecidos duros

Figura 14: Estereomicroscópio

2. MÉTODOS

Para este estudo foram utilizados 20 dentes humanos, correspondentes a terceiros molares, hígidos e sem contactos oclusais, cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz.

2.1. Preparação das amostras

Os dentes foram previamente desinfetados com peróxido de hidrogénio e curetados de modo a remover todos os tecidos aderentes, com curetas periodontais (ASA Dental™, Italy). Após a preparação foram lavados com água corrente e armazenados numa solução de timol à temperatura de 4° C.



Figura 15: Dentes pré curetagem Figura 16: Curetagem dos tecidos Figura 17: Dentes pós curetagem aderentes

Posteriormente foram divididos, de forma aleatória, em dois grupos de 10 dentes cada. E novamente em grupos de 5 dentes cada, definindo-se quatro grupos distintos, de acordo com o procedimento realizado:

Tabela 3: Características dos grupos experimentais

Grupos experimentais	Tamanho da amostra	Condicionamento ácido	Tempo de polimerização
GRUPO I	N = 5	Não	24 horas
GRUPO IIA	N = 5	Sim	24 horas
GRUPO III	N = 5	Não	1 mês
GRUPO IVA	N = 5	Sim	1 mês

De seguida selaram-se as raízes de todos os dentes de todos os grupos, com verniz, de modo a evitar infiltração interna.



Figura 18: Selamento das raízes com verniz

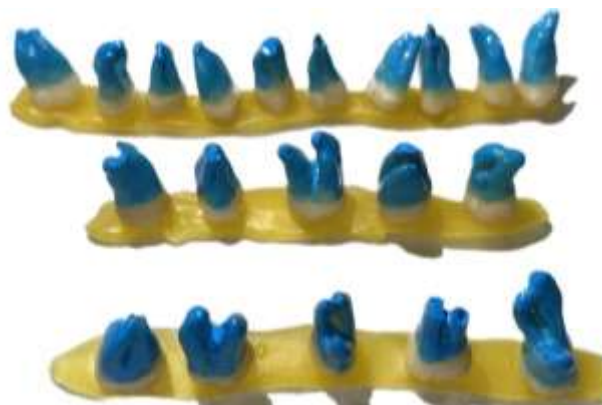


Figura 19: Dentes pós selamento

2.2. Aplicação do adesivo

Misturou-se o adesivo experimental, T1, com um catalisador à base de água, o reagente A e aplicou-se segundo as indicações do fabricante.



Figura 20: Mistura do adesivo com o reagente A, conforme indicações do fabricante

Nos grupos I e III colocou-se diretamente o adesivo T1, enquanto nos grupos IIA e IVA foi feito condicionamento ácido com ácido ortofosfórico (3M ESPE™) durante 30 segundos, lavou-se abundantemente com água, secou-se e colocou-se o adesivo T1. Em todos os grupos aguardou-se 20 minutos pela presa.



Figura 21: Aplicação do adesivo T1 nos grupos I e III



Figura 22: Imagem representativa do condicionamento ácido nos grupos IIA e IVA



Figura 23: Grupos IIA e IVA pós condicionamento ácido



Figura 24: Aplicação do adesivo T1 nos grupos IIA e IVA

Após a polimerização, todos os dentes foram armazenados em água destilada numa estufa de incubação a 37°C (Memmert® INE400, Germany).



Figura 25: Grupos I, IIA, III e IVA armazenados em água destilada

2.3. Infiltração de corante

Os grupos I e IIA foram retirados ao fim de 24 horas, lavados e emergidos numa solução preparada de fucsina básica a 0,5% durante 24 horas, o que permitiria a infiltração do corante caso existissem fendas entre o adesivo e o dente.

Os grupos III e IVA foram mantidos na estufa de incubação a 37°C (Memmert®, Germany) e retirados passado 1 mês, seguindo-se o mesmo procedimento de infiltração de fucsina que nos restantes grupos.



Figura 26: Grupos III e IVA na estufa de incubação a 37°C, durante 1 mês



Figura 27: Grupos I e IIA numa solução preparada de fucsina básica a 0,5%



Figura 28: Grupos III e IVA numa solução preparada de fucsina básica a 0,5%

Após as 24 horas lavaram-se abundantemente todos os dentes, secaram-se e foram incluídos numa resina acílica (Clarocit kit™, Struers) para serem cortados no micrótomo de tecidos duros (Accutom-50™, Struers), com uma lâmina diamantada irrigada com água a 2500 rpm (Isomet™, Buehler).

Os dentes foram seccionados no sentido longitudinal na direção vestibulo-lingual com uma espessura de 1mm.



Figura 29: Grupos I e IIA inseridos na resina acrílica

2.4. Avaliação da microinfiltração

De um total de 20 dentes obtiveram-se 90 cortes, que foram selecionados segundo um critério de seleção em que as amostras que apresentassem esmalte e adesivo em simultâneo eram escolhidas para serem observadas.

Assim foram excluídas 10 amostras dos grupos I e IIA, 5 de cada um, 13 amostras do grupo III e 10 amostras do grupo IVA, resultando 57 secções no total. Deste modo obteve-se 3 cortes de cada dente organizados pelos respetivos grupos, como demonstram as figuras 30, 31, 32 e 33.

Cada corte foi observado dos dois lados e por dois examinadores cegos aos grupos experimentais, no estereomicroscópio (SMZ800N TM, Nikon) com uma ampliação de 20x.

Para avaliar a microinfiltração seguiu-se a seguinte classificação:

- Classificação 1: Não há infiltração
- Classificação 2: Ocorre infiltração no terço inicial e no terço médio
- Classificação 3: Ocorre infiltração ao longo de todo o comprimento da fissura

As figuras 34, 35 e 36 são representativas da classificação utilizada.



Figura 30: Cortes dos dentes do grupo I



Figura 31: Cortes dos dentes do grupo IIA



Figura 32: Cortes dos dentes do grupo III



Figura 33 : Cortes dos dentes do grupo IVA

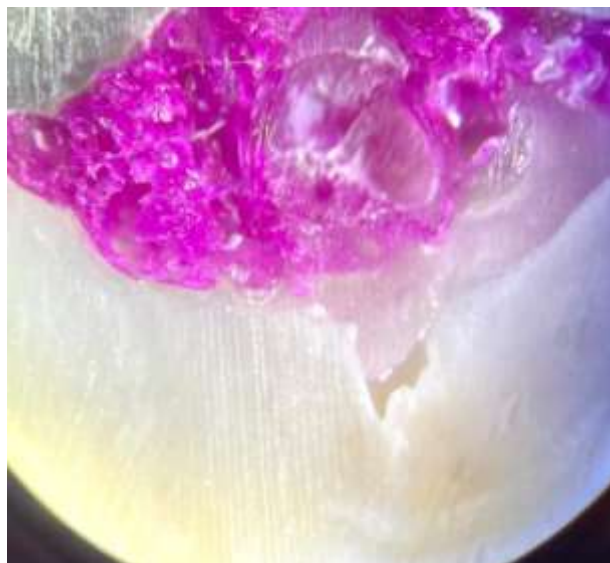


Figura 34: Imagem representativa de classificação 1 de microinfiltração. Observação feita numa ampliação de 20x.

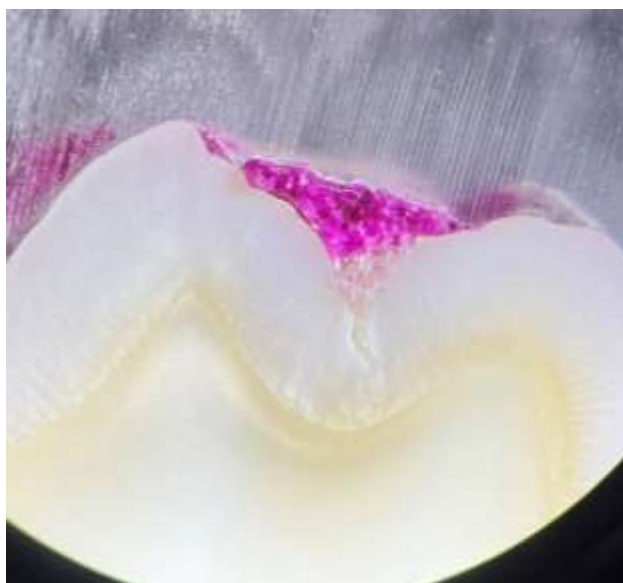


Figura 35: Imagem representativa da classificação 2 de microinfiltração. Observação feita numa ampliação de 20x.



Figura 36: Imagem representativa da classificação 3 de microinfiltração. Observação feita numa ampliação de 20x.

2.5. Análise estatística

No presente estudo utilizámos testes estatísticos para avaliar as associações entre a classificação de infiltração, o tempo e o tipo de tratamento, utilizando o software SPSS versão 28.

Aplicamos o teste Qui-Quadrado de Independência para verificar associações significativas entre variáveis categóricas, complementado pelo V de Cramer, para medir a força dessas associações. Também realizamos uma análise log-linear hierárquica para examinar interações entre as múltiplas variáveis categóricas, verificando a independência das observações e a adequação do modelo aos dados. Esta análise permitiu identificar efeitos principais e interações significativas, oferecendo uma compreensão detalhada das relações entre tempo, tipo de tratamento e classificação de infiltração.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Resultados

De um total de 20 dentes foram obtidas 57 secções para avaliar. De modo a quantificar a microinfiltração do adesivo em estudo, as amostras foram observadas no estereomicroscópio com uma ampliação de 20x e classificadas de acordo com o critério apresentado anteriormente.

O gráfico 1 compara os resultados obtidos dos dois tipos de tratamentos diferentes (com e sem condicionamento ácido) e dos dois tempos de polimerização distintos (24 horas e 1 mês). No grupo I observa-se 2 amostras sem infiltração, 8 com infiltração no terço inicial e médio e 20 com infiltração total. No grupo IIA existem 2 amostras com infiltração no terço inicial e médio e 28 com infiltração total. No grupo III houve infiltração total em todas as amostras e no grupo IVA verifica-se 1 amostra com infiltração do terço inicial e médio e as restantes 29 com infiltração total.

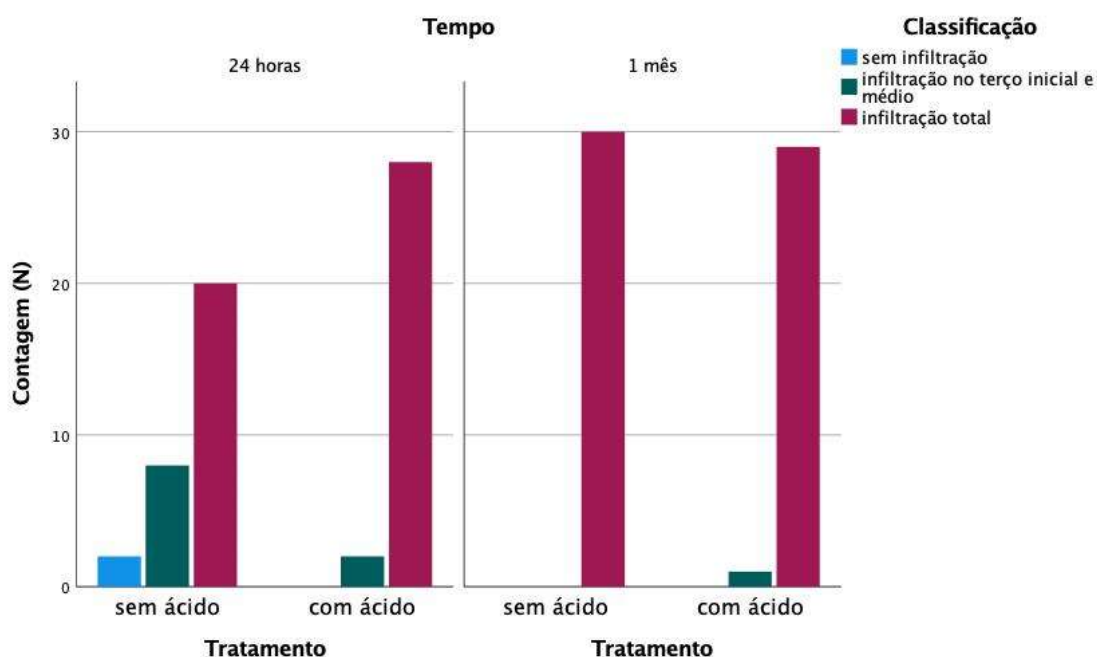


Gráfico 1: Contagem (N) de microinfiltração

De acordo com o gráfico 2, o grupo III foi o que apresentou maior percentagem de microinfiltração (100%), ao contrário do grupo I que apresentou a menor percentagem de microinfiltração (66,7%).

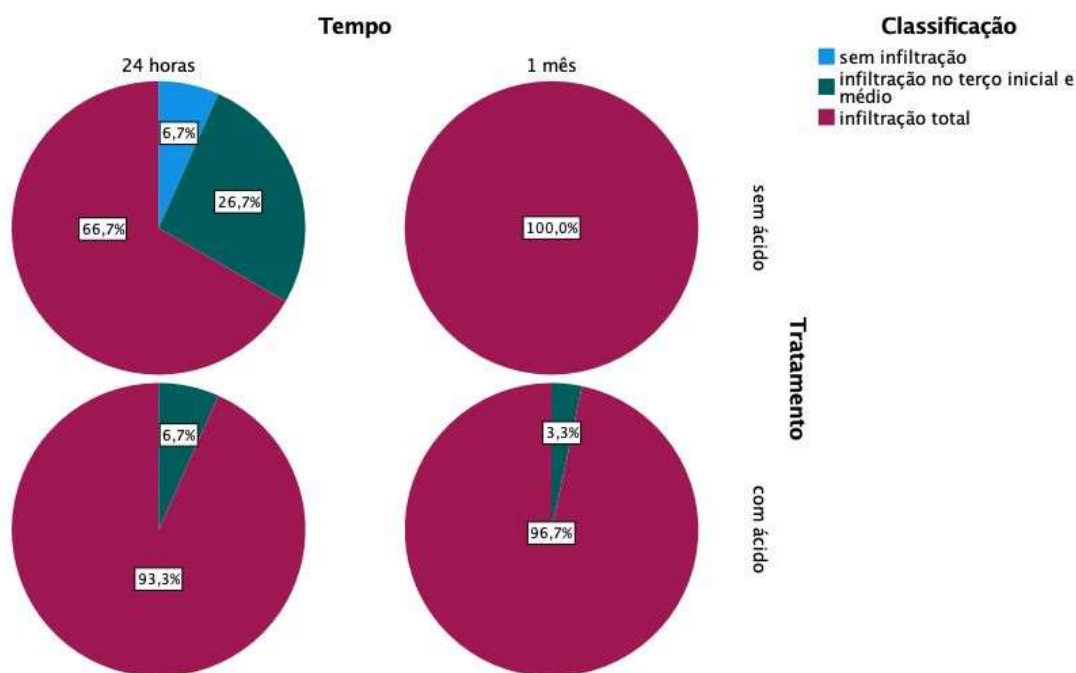


Gráfico 2: Percentagem de microinfiltração

Uma análise log-linear hierárquica foi realizada para examinar as associações entre tempo, tratamento e classificação. O modelo hierárquico incluiu todos os efeitos principais e interações bidirecionais entre estas variáveis. Antes de proceder com a análise, foi verificado se as suposições necessárias foram cumpridas, incluindo a independência das observações, a adequação do modelo aos dados, a presença de um tamanho suficiente da amostra e a distribuição multinomial das contagens.

Os resultados dos testes de associação parcial estão apresentados na Tabela 1. A interação entre tempo e tratamento não foi estatisticamente significativa, com $\chi^2(1) = 0.429$, $p = 0.512$, sugerindo que não há uma interação significativa entre o tempo e o tipo de tratamento no modelo.

No entanto, a interação entre tempo e classificação foi significativa, com $\chi^2(1) = 12.882$, $p = 0.002$, indicando uma associação notável. Adicionalmente, a interação entre tratamento e classificação foi significativa, com $\chi^2(1) = 6.018$, $p = 0.049$, o que significa que o tipo de tratamento está significativamente associado com a classificação.

Em relação aos efeitos principais, a variável classificação teve um efeito principal significativo, com $\chi^2(1) = 170.181$, $p < 0.001$, enquanto tempo e tratamento não mostraram efeitos principais significativos, ambos com $\chi^2(1) = 0.0$, $p = 1.0$.

As estimativas dos parâmetros para o modelo hierárquico estão apresentadas na Tabela 2. O termo constante foi estimado em 3.384, servindo como o ponto de referência base do modelo, ao qual outros efeitos são comparados. O parâmetro para 24 horas foi de -0.206 ($Z = -1.062$, $p = 0.288$), não sendo estatisticamente significativo, o que sugere que, após 24 horas, não há um efeito significativo no resultado medido. O parâmetro para tratamento sem ácido foi estimado muito próximo de zero, com $Z = 0.000$, $p = 1.0$, indicando que o tratamento sem ácido não tem um efeito significativo por si só.

Para a condição de "sem infiltração", o parâmetro foi de -21.904 ($Z = -0.005$, $p = 0.996$), também não sendo estatisticamente significativo. No entanto, a infiltração do terço inicial e médio teve um efeito negativo significativo, com uma estimativa de -4.078 ($Z = -4.043$, $p < 0.001$).

Os termos de interação também forneceram informações importantes. A interação de 24 horas com a condição de "sem infiltração" teve uma estimativa de 18.726 ($Z = 0.004$, $p = 0.997$), não sendo estatisticamente significativa, o que sugere que esta combinação não tem um efeito significativo. Por outro lado, a interação de 24 horas com a infiltração do terço inicial e médio teve uma estimativa de 2.509 ($Z = 2.352$, $p = 0.019$), sendo estatisticamente significativa, indicando que esta combinação tem um efeito positivo significativo.

Tabela 4: Associações parciais para tempo, tratamento e classificação

Efeito	Associação Parcial χ^2 (df = 1)	Sig.
Tempo*Tratamento	0.429	0.512
Tempo*Classificação	12.882	0.002
Tratamento*Classificação	6.018	0.049
Tempo	0.0	1.0
Tratamento	0.0	1.0
Classificação	170.181	<0.001

Nota: Sig. = valor p.

Tabela 5: Estimativas de parâmetros para modelo hierárquico

Parâmetro	Estimativa	Z	Sig.
Constante	3.384	-	-
[24 horas]	-0.206	-1.062	0.288
[sem ácido]	-2.66e-16	0.0	1.0
[sem infiltração]	-21.904	-0.005	0.996
[infiltração do terço inicial e médio]	-4.078	-4.043	<0.001
[24 horas] * [sem infiltração]	18.726	0.004	0.997
[24 horas] * [infiltração do terço inicial e médio]	2.509	2.352	0.019

Nota: Z= Estimativa (λ) / Erro padrão; Sig. = valor p.

Um teste de independência qui-quadrado foi conduzido entre a classificação e o tipo de tratamento após 24 horas (Tabela 6). Todas as frequências esperadas nas células foram maiores que cinco. Houve uma associação estatisticamente significativa entre a classificação e o tipo de tratamento, $\chi^2(2) = 6.93$, $p = 0.031$. A associação foi moderada (Cohen, 1988), com V de Cramer = 0.340.

Tabela 6: Tabela de contingência da classificação e tratamento às 24 horas

Classificação	Tratamento	
	Sem ácido	Com ácido
Sem infiltração	2 (1,4)	0 (-1,4)
Com infiltração inicial e média	8 (2,1)	2 (-2,1)
Com infiltração total	20 (-2,6)	28 (2,6)

Nota: Resíduos ajustados aparecem em parênteses por baixo da frequência observada.

Um teste de independência qui-quadrado foi conduzido entre a classificação e o tipo de tratamento após 1 mês (Tabela 7). Todas as frequências esperadas nas células foram maiores que cinco. Não houve uma associação estatisticamente significativa entre a classificação e o tipo de tratamento, $\chi^2(1) = 1.01$, $p = 0.313$. A associação foi pequena (Cohen, 1988), com V de Cramer = 0.130.

Tabela 7: Tabela de contingência da Classificação e Tratamento a 1 mês

Classificação	Tratamento	
	Sem ácido	Com ácido
Com infiltração inicial e média	0	1
Com infiltração total	30	29

Nota: Os números representam a frequência observada.

Um teste de independência qui-quadrado foi conduzido entre a classificação e o tempo sem tratamento com ácido (Tabela 8). Todas as frequências esperadas nas células foram maiores que cinco. Houve uma associação estatisticamente significativa entre a classificação e o tempo sem tratamento com ácido, $\chi^2(2) = 12.00$, $p = 0.002$. A associação foi moderada (Cohen, 1988), com V de Cramer = 0.447.

Tabela 8: Tabela de contingência da Classificação e Tempo sem tratamento com ácido

Classificação	Tempo	
	24 horas	1 mês
Sem infiltração	2 (1,4)	0 (-1,4)
Com infiltração inicial e média	8 (3,0)	0 (-3,0)
Com infiltração total	20 (-3,5)	30 (3,5)

Nota: Resíduos ajustados aparecem em parênteses por baixo da frequência observada.

Um teste de independência qui-quadrado foi conduzido entre a classificação e o tempo com tratamento com ácido (Tabela 9). Todas as frequências esperadas nas células foram maiores que cinco. Não houve uma associação estatisticamente significativa entre a classificação e o tempo com tratamento com ácido, $\chi^2(1) = 0.351$, $p = 0.554$. A associação foi pequena (Cohen, 1988), com V de Cramer = 0.076.

Tabela 9: Tabela de contingência da Classificação e Tempo com tratamento com ácido

Classificação	Tempo	
	24 horas	1 mês
Com infiltração inicial e média	2	1
Com infiltração total	28	29

Nota: Os números representam a frequência observada.

2. Discussão

O uso de selantes tem demonstrado um grande contributo para a saúde oral, atuando como uma estratégia preventiva para a redução do início e/ou progressão das cáries oclusais (Pardi et al., 2006).

Devido à morfologia dentária mais complexa, os molares são os dentes mais suscetíveis à cárie dentária e apresentam uma fase de erupção mais longa, o que promove maior acumulação de placa. Os selantes mostraram ser eficientes no que toca à prevenção de cáries tanto nos dentes decíduos como nos definitivos, no entanto o principal desafio na prática clínica é a ausência de microinfiltração em torno do material restaurador (Prabahar, 2022).

Nesta investigação avaliou-se a microinfiltração do adesivo experimental, T1, aplicado como um selante, passado 24 horas e 1 mês, utilizando-se dois modos de aplicação distintos: com condicionamento ácido da superfície dentária ou sem condicionamento ácido.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se a infiltração do adesivo experimental T1, tanto na variante de 24 horas como na de 1 mês, confirmando-se assim a hipótese alternativa. No que toca ao modo de aplicação do adesivo, os resultados obtidos revelaram também infiltração tanto nos grupos sem condicionamento ácido prévio como nos com condicionamento ácido, confirmando-se a hipótese alternativa.

Para este estudo foram escolhidos terceiros molares hígidos e sem contactos oclusais, extraídos por motivos ortodônticos ou periodontais, cedidos pelo banco de dentes da Clínica Dentária Egas Moniz, seguindo-se o mesmo critério de seleção das amostras de Pardi et al., Zhou et al. e Zmener & Pameijer (Pardi et al., 2006; Zmener & Pameijer, 2019; Zhou et al., 2023).

Na preparação das amostras realizou-se a curetagem dos tecidos aderentes com recurso a curetas periodontais Gracey (Deppeler™)(Germán-Cecilia et al., 2018; Zhou et al., 2023).

O meio de armazenamento escolhido foi adaptado do estudo de Germán-Cecilia et al., Singh & Lakhanam e de Zhou et al., utilizando-se uma solução de timol, à semelhança dos autores referidos, mantida a 4°C, tal como Zmener & Pameijer. Os dentes foram armazenados nesta solução por não mais do que 6 meses. Todos os dentes foram selados com verniz das unhas, aplicando-se em todo o comprimento da raiz de modo a impedir a

infiltração interna (Germán-Cecilia et al., 2018; Zmener & Pameijer, 2019; Singh & Lakhanam, 2022; Zhou et al., 2023).

De modo a padronizar o estudo, todos os procedimentos laboratoriais foram realizados pela mesma operadora e foi utilizado o mesmo adesivo experimental em todos os grupos, seguindo-se as indicações do fabricante.

Neste estudo em dois dos grupos experimentais foi feito condicionamento ácido da superfície oclusal com ácido ortofosfórico a 37% aplicado durante 30 segundos, que foi posteriormente lavado abundantemente com água corrente e secado, aplicando-se de seguida o adesivo. Nos restantes dois grupos foi apenas aplicado o adesivo na superfície oclusal sem a aplicação prévia de ácido. Nos estudos de *Butail et al.* e de *Topaloglu-Ak et al.* foram também utilizados grupos com e sem condicionamento ácido do esmalte, de modo a comparar a retenção do selante nos diferentes procedimentos (Topaloglu et al., 2013; Butail et al., 2020).

De seguida, as amostras foram armazenadas em água destilada numa estufa de incubação a 37°C. Os grupos I e IIA foram retirados ao fim das 24 horas e os grupos III e IVA foram mantidos durante um mês, baseado no processo de envelhecimento de *Seraj et al.*, *Şimşek et al.* e *Topaloglu-Ak et al.* (Topaloglu et al., 2013; Seraj et al., 2019; Şimşek et al., 2020).

Seguindo o mesmo procedimento de *Şimşek et al.* e de *Cehreli & Gungor*, as amostras foram emersas numa solução de fucsina básica a 0,5% a 37°C durante 24 horas, de modo a permitir a infiltração do corante nas possíveis fendas que existissem entre o material de selamento e o dente (Cehreli & Gungor, 2008; Şimşek et al., 2020). Outros autores optaram por uma solução de azul de metileno a 5% durante 24 horas, como material de infiltração (Celiberti & Lussi, 2007; Prabahar et al., 2022).

Após a infiltração do corante, os dentes foram lavados em água corrente, secados e incorporados numa resina acrílica exotérmica, *Clarocit kit™*, de modo a poderem ser cortados no micrótopo de tecidos duros, *Accutom-50™*, seguindo-se o mesmo procedimento de *Cehreli & Gungor* e *Pardi et al.* que incluíram as amostras numa resina com características semelhantes à utilizada neste estudo (Pardi et al., 2006; Cehreli & Gungor, 2008).

Atendendo à metodologia de *Seraj et al.* e *Zhou et al.* foram realizados cortes longitudinais no sentido vestibulo-lingual, utilizando um disco diamantado irrigado por água (*Isomet™*, *Buehler*) (Seraj et al., 2019; Zhou et al., 2023).

Quanto ao número de amostras estabeleceu-se três secções por dente paralelas entre si e com uma espessura de 1 mm, à semelhança de Celiberti & Lussi e Cehreli & Gungor (Celiberti & Lussi, 2007; Cehreli & Gungor, 2008).

Cada secção foi observada duas vezes e dos dois lados por uma dupla de examinadores cegos à distribuição dos grupos experimentais, num estereomicroscópio (SMZ800N™, Nikon) com uma ampliação de 20x (Cehreli & Gungor, 2008; Simsek Derelioglu et al., 2014; Şimşek et al., 2020).

A classificação utilizada foi adaptada nos critérios utilizados por *Pardi et al.*, *Prabahar et al.* e *Tehrani et al.*, definindo-se uma classificação com apenas 3 parâmetros, menos um do que nos estudos mencionados (Pardi et al., 2006; Tehrani et al., 2013; Prabahar et al., 2022).

Os dados recolhidos foram analisados estatisticamente em SPSS. Sendo o adesivo T1 um material novo e distinto dos mais utilizados como selantes, nomeadamente os selantes resinosos e os cimentos de ionómero de vidro, apresenta um comportamento diferente destes: às 24 horas apresenta uma ligação estável ao esmalte íntegro e uma ligação deficiente ao esmalte condicionado, o que se traduz numa baixa infiltração em esmalte íntegro e elevada infiltração em esmalte condicionado; a 1 mês não há diferença significativa com ou sem condicionamento ácido.

Atualmente ainda não existe uma metodologia *standard* para a avaliação *in vitro* da microinfiltração de selantes de fissuras o que torna difícil a comparação de resultados entre estudos (Germán-Cecilia et al., 2018).

Esta investigação apresentou algumas limitações que deverão ser melhoradas em estudos futuros, através de uma ampliação da amostra, diminuição do tempo de presa do adesivo, aumento da fluidez e diminuição da porosidade do mesmo, de modo a penetrar melhor nas fossas e fissuras e aumento do período de envelhecimento das amostras, sendo que para isso seria importante introduzir a etapa referente à termociclagem.

VI. CONCLUSÕES

Em resposta ao objetivo deste trabalho e com base nos resultados obtidos, podemos concluir que:

- Às 24 horas, o adesivo experimental apresentou uma ligação estável ao esmalte íntegro. No entanto, no grupo pós condicionamento ácido do esmalte, verifica-se um aumento da infiltração.
- A 1 mês, não se verifica diferença significativa entre o esmalte condicionado e o esmalte íntegro.

Rejeitam-se assim as hipóteses nulas e aceitam-se as hipóteses alternativas, tanto às 24 horas como a 1 mês.

Sendo este um estudo piloto e com o objetivo de introduzir melhorias ao produto, este deve ser reformulado nas suas características e repetido o mesmo protocolo laboratorial, avaliando-se a microinfiltração às 24 horas, 1 mês e 3 meses.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AlHabdan, A. A. (2017). *Review of Microleakage Evaluation Tools*. *Journal of International Oral Health*, 9(4): 141-145. https://doi.org/10.4103/jioh.jioh_160_17
- Alkattan R. (2023). Adhesion to enamel and dentine: an update. *Primary dental journal*, 12(3), 33–42. <https://doi.org/10.1177/20501684231196756>
- Altaf, G., Garg, S., Saraf, B. G., Sheoran, N., Beg, A., Anand, M. (2019). Clinical Study of Pit and Fissure Morphology and its Relationship with Caries Prevalence in Young Permanent First Molars. *Journal of South Asian Association of Pediatric Dentistry*. 2(2):56-60. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10077-3032>
- Arslan, S., Lipski, L., Dubbs, K., Elmali, F., & Ozer, F. (2018). Effects of different resin sealing therapies on nanoleakage within artificial non-cavitated enamel lesions. *Dental materials journal*, 37(6), 981–987. <https://doi.org/10.4012/dmj.2017-027>
- Avinash, J., Marya, C. M., Dhingra, S., Gupta, P., Kataria, S., Meenu, Bhatia, H. P. (2010). Pit and Fissure Sealants: An Unused Caries Prevention Tool. *Journal of Oral Health and Community Dentistry*, 4(1): 1-6. <https://doi.org/10.5005/johcd-4-1-1>
- Baratieri, L. N., et al. (2004). *Estética – Restauraciones Adhesivas Directas en Dientes Anteriores Fracturados*. (2ª ed.). *Livraria Santos*.
- Boushell, L. W. & Sturdevant, J. R. (2019). Clinical Significance of Dental Anatomy, Histology, Physiology, and Occlusion. In Ritter, A. V., Boushell, L. W., Walter, R. (Eds.), *Art and Science of Operative Dentistry*. (7th ed., pp. 1-39). *Elsevier*.
- BUONOCORE M. G. (1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *Journal of dental research*, 34(6), 849–853. <https://doi.org/10.1177/00220345550340060801>
- Butail, A., Dua, P., Mangla, R., Saini, S., Chauhan, A., & Rana, S. (2020). Evaluation of Marginal Microleakage and Depth of Penetration of Different Materials Used as Pit and Fissure Sealants: An *In Vitro* Study. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 13(1), 38–42. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1742>
- Cehreli, Z. C., & Gungor, H. C. (2008). Quantitative microleakage evaluation of fissure sealants applied with or without a bonding agent: results after four-year water storage in vitro. *The journal of adhesive dentistry*, 10(5), 379–384.

Celiberti, P., & Lussi, A. (2007). Penetration ability and microleakage of a fissure sealant applied on artificial and natural enamel fissure caries. *Journal of dentistry*, 35(1), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2006.04.007>

Cvikl, B., Moritz, A., & Bekes, K. (2018). Pit and Fissure Sealants-A Comprehensive Review. *Dentistry journal*, 6(2), 18. <https://doi.org/10.3390/dj6020018>

Davis, R. D. (1996). Patient Evaluation and Problem-Oriented Treatment Planning. In Schwartz, R. S., Summitt, J. B., Robbins, J. W. (Eds.). *Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*. (1st ed., pp. 27-50). *Quintessence Publishing Co*.

Dixit, A., Awasthi, N., Jha, S., Suprakasam, S., Penumatsa, N. V., & Vijayan, A. A. (2021). Assessment of Penetration Depth and Microleakage of Different Pit and Fissure Sealants Using Dye Penetration Method: An *In Vitro* Study. *The journal of contemporary dental practice*, 22(8), 890–893.

Fabianelli, A., Pollington, S., Davidson, C. L., Cagidiaco, M. C., Goracci, C. (2007). The Relevance of Micro-leakage Studies. *International Dentistry SA*.

Farci, F., Soni, A. (2023). Histology, Tooth. *Stat Pearls*.

Forss, H., & Halme, E. (1998). Retention of a glass ionomer cement and a resin-based fissure sealant and effect on carious outcome after 7 years. *Community dentistry and oral epidemiology*, 26(1), 21–25.

Germán-Cecilia, C., Gallego Reyes, S. M., Pérez Silva, A., Serna Muñoz, C., & Ortiz-Ruiz, A. J. (2018). Microleakage of conventional light-cure resin-based fissure sealant and resin-modified glass ionomer sealant after application of a fluoride varnish on demineralized enamel. *PloS one*, 13(12), e0208856. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208856>

Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., & Boskey, A. (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 3(2), 711–735. <https://doi.org/10.2741/e281>

Gwinnett, A. J. (2004). Adhesivos Dentales. In Baratieri, L. N., et al. (Eds.), *Estética – Restauraciones Adhesivas Directas en Dientes Anteriores Fracturados*. (2ª ed., pp. 57-72). *Livraria Santos*.

- Kassebaum, N. J., Smith, A. G. C., Bernabé, E., Fleming, T. D., Reynolds, A. E., Vos, T., Murray, C. J. L., Marcenes, W., & GBD 2015 Oral Health Collaborators (2017). Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *Journal of dental research*, 96(4), 380–387. <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>
- Kidd, E. A., & Fejerskov, O. (2004). What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *Journal of dental research*, 83 Spec No C, C35–C38. <https://doi.org/10.1177/154405910408301s07>
- Kidd E. A. (1976). Microleakage: a review. *Journal of dentistry*, 4(5), 199–206. [https://doi.org/10.1016/0300-5712\(76\)90048-8](https://doi.org/10.1016/0300-5712(76)90048-8)
- Khoroushi, M., & Ehteshami, A. (2016). Marginal microleakage of cervical composite resin restorations bonded using etch-and-rinse and self-etch adhesives: two dimensional vs. three dimensional methods. *Restorative dentistry & endodontics*, 41(2), 83–90. <https://doi.org/10.5395/rde.2016.41.2.83>
- Lacruz, R. S., Habelitz, S., Wright, J. T., & Paine, M. L. (2017). DENTAL ENAMEL FORMATION AND IMPLICATIONS FOR ORAL HEALTH AND DISEASE. *Physiological reviews*, 97(3), 939–993. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>
- Lopes, G. C., Thys, D. G., Klaus, P., Oliveira, G. M., & Widmer, N. (2007). Enamel acid etching: a review. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, N.J. : 1995)*, 28(1), 18–42.
- Markovic, D., Peric, T., & Petrovic, B. (2018). Glass-ionomer fissure sealants: Clinical observations up to 13 years. *Journal of dentistry*, 79, 85–89. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.10.007>
- Marshall, S. J., Bayne, S. C., Baier, R., Tomsia, A. P., & Marshall, G. W. (2010). A review of adhesion science. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*, 26(2), e11–e16. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.11.157>
- Meerbeek, B. V., Perdigão, J., Gladys, S., Lambrechts, P., Vanherle, G. (1996). Enamel and Dentin Adhesion. In Schwartz, R. S., Summitt, J. B., Robbins, J. W. (Eds.).

Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach. (1st ed., pp.141-186). *Quintessence Publishing Co.*

Naaman, R., El-Housseiny, A. A., & Alamoudi, N. (2017). The Use of Pit and Fissure Sealants-A Literature Review. *Dentistry journal*, 5(4), 34. <https://doi.org/10.3390/dj5040034>

Nicholson, J. W. (1996). Biologic Considerations. In Schwartz, R. S., Summitt, J. B., Robbins, J. W. (Eds.), *Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*. (1st ed., pp. 1-25). *Quintessence Publishing Co.*

Orłowski, M., Tarczydło, B., & Chałas, R. (2015). Evaluation of marginal integrity of four bulk-fill dental composite materials: in vitro study. *TheScientificWorldJournal*, 2015, 701262. <https://doi.org/10.1155/2015/701262>

Pardi, V., Sinhoreti, M. A., Pereira, A. C., Ambrosano, G. M., & Meneghim, M.deC. (2006). In vitro evaluation of microleakage of different materials used as pit-and-fissure sealants. *Brazilian dental journal*, 17(1), 49–52. <https://doi.org/10.1590/s0103-64402006000100011>

Perdigão, J., Walter, R., Miguez, P. A., Swift, E. J. (2019). Fundamental Concepts of Enamel and Dentin Adhesion. In Ritter, A. V., Boushell, L. W., Walter, R. (Eds.), *Art and Science of Operative Dentistry*. (7th ed., pp. 136-169). *Elsevier*.

Prabahar, T., Chowdhary, N., Konkappa, K. N., Vundela, R. R., & Balamurugan, S. (2022). Evaluation of Microleakage of Different Types of Pit and Fissure Sealants: An *In Vitro* Comparative Study. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 15(5), 535–540. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2436>

Puppin-Rontani, R. M., Baglioni-Gouvea, M. E., deGoes, M. F., & Garcia-Godoy, F. (2006). Compomer as a pit and fissure sealant: effectiveness and retention after 24 months. *Journal of dentistry for children (Chicago, Ill.)*, 73(1), 31–36.

Riethe, P. (1990). *Atlas de Profilaxis De La Caries Y Tratamiento Conservador*. (1ª ed.). *Salvat*.

Ritter, A. V., Boushell, L. W., Walter, R. (2019). *Art and Science of Operative Dentistry*. (7th ed.). *Elsevier*.

- Salman, F. D. (2011). The Effect of Fissure Morphology on Caries Severity of Adults in North Iraq. *Journal of Techniques*.
- Schwartz, R. S., Hilton, T. J. (1996). Caries Management and Pulpal Considerations. In Schwartz, R. S., Summitt, J. B., Robbins, J. W. (Eds.). *Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*. (1st ed., pp. 51- 66). *Quintessence Publishing Co*.
- Schwartz, R. S., Summitt, J. B., Robbins, J. W. (1996). *Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach*. (1st ed.). *Quintessence Publishing Co*.
- Selwitz, R. H., Ismail, A. I., Pitts, N. B. (2007). Dental Caries. *Lancet*.
- Seraj, B., Meighani, G., Milani, S., & Fatemi, M. (2019). Effect of Precuring and Postcuring of Total-Etch and Self-Etch Bonding Agents on the Microleakage of Fissure Sealants. *Frontiers in dentistry*, 16(6), 421–428. <https://doi.org/10.18502/fid.v16i6.3441>
- Simonsen R. J. (2002). Pit and fissure sealant: review of the literature. *Pediatric dentistry*, 24(5), 393–414.
- Şimşek, H., Yazıcı, A. R., & Güngör, H. C. (2020). In Vitro Evaluation of Different Protocols for Preventing Microleakage of Fissure Sealants Placed Following Saliva Contamination. *The Journal of clinical pediatric dentistry*, 44(4), 240–248. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-44.4.5>
- Simsek Derelioglu, S., Yilmaz, Y., Celik, P., Carikcioglu, B., & Keles, S. (2014). Bond strength and microleakage of self-adhesive and conventional fissure sealants. *Dental materials journal*, 33(4), 530–538. <https://doi.org/10.4012/dmj.2013-227>
- Singh, R., & Lakhanam, M. (2022). An *In Vitro* Study of Three Types of Pit and Fissure Sealants for Viscosity, Resin Tag, and Microleakage: A Scanning Electron Microscope Study. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 15(3), 304–310. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2392>
- Singh S. (2023). Microleakage Studies - A Viewpoint. *Journal of conservative dentistry : JCD*, 26(1), 1–2. https://doi.org/10.4103/jcd.jcd_1_23
- Srinivasan, V., Deery, C., & Nugent, Z. (2005). In-vitro microleakage of repaired fissure sealants: a randomized, controlled trial. *International journal of paediatric dentistry*, 15(1), 51–60. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2005.00609.x>

Tehrani, M. H., Birjandi, N., Nasr, E., & Shahtusi, M. (2014). Comparison of microleakage of two materials used as fissure sealants with different methods: an in vitro study. *International journal of preventive medicine*, 5(2), 171–175.

Topaloglu-Ak, A., Onçağ, O., Gökçe, B., & Bent, B. (2013). The effect of different enamel surface treatments on microleakage of fissure sealants. *Acta medica academica*, 42(2), 223–228. <https://doi.org/10.5644/ama2006-124.90>

Wright, J. T., Crall, J. J., Fontana, M., Gillette, E. J., Nový, B. B., Dhar, V., Donly, K., Hewlett, E. R., Quinonez, R. B., Chaffin, J., Crespín, M., Iafolla, T., Siegal, M. D., Tampi, M. P., Graham, L., Estrich, C., & Carrasco-Labra, A. (2016). Evidence-based clinical practice guideline for the use of pit-and-fissure sealants: A report of the American Dental Association and the American Academy of Pediatric Dentistry. *Journal of the American Dental Association* (1939), 147(8), 672–682.e12. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2016.06.001>

Xalabarde, A., Garcia-Godoy, F., Boj, J. R., & Canalda, C. (1998). Microleakage of fissure sealants after occlusal enameloplasty and thermocycling. *The Journal of clinical pediatric dentistry*, 22(3), 231–235.

Yang, H., Guo, J., Guo, J., Chen, H., Somar, M., Yue, J., & Huang, C. (2015). Nanoleakage evaluation at adhesive-dentin interfaces by different observation methods. *Dental materials journal*, 34(5), 654–662. <https://doi.org/10.4012/dmj.2015-051>

Zandoná, A., Ritter, A. V., Eidson, R. S. (2019). Dental Caries: Etiology, Clinical Characteristics, Risk Assessment, and Management. In Ritter, A. V., Boushell, L. W., Walter, R. (Eds.). *Art and Science of Operative Dentistry*. (7th ed., pp. 40-94). *Elsevier*.

Zmener, O., & Pameijer, C. H. (2019). Bacterial microleakage of a bioactive pit & fissure sealant. *American journal of dentistry*, 32(5), 219–222.

Zhou, Y., Huang, X., Wu, L., Liang, Y., Huang, Y., & Huang, S. (2023). Microleakage, microgap, and shear bond strength of an infiltrant for pit and fissure sealing. *Heliyon*, 9(5), e16248. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16248>

ANEXOS



EGAS MONIZ SCHOOL
of HEALTH & SCIENCE

Comissão de Ética EGAS MONIZ

PT-324/23

Processo Interno nº 1369

Ex.ma Senhora

Bárbara Sofia Rodrigues Ruivinho

Monte de Caparica, 27 de fevereiro de 2024.

Ex.ma Senhora,

Em resposta ao Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado: "Avaliação in vitro da microinfiltração de adesivo experimental", foi aprovado.

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª Doutora Cidália de Castro



New Sealant Microleakage: A Preliminary Approach

Brilo, João; Ruivinho, Bárbara; Martins, Francisco; Maurício, Paulo; Albacete, Carlos Pérez

Introduction

Prevention in Dentistry is ideally the dentist primary approach, with the main focus being the cavities prevention. The fissures and pits complex morphology favours the food debris retention in the posterior teeth, making daily oral hygiene less effective ^{1,2}. Therefore, fissure sealants emerge as important material for controlling and preventing cavities by forming a physical and chemical barrier against the metabolism of bacteria present in the oral cavity ^{2,3}. Pit and fissure sealants can be broadly classified into resin-based, glass ionomer-based, and hybrid varieties. Resin-based sealants create a physical barrier to prevent caries, while glass ionomer cement sealants chemically bond to dental tissues and release fluoride, exerting an anticariogenic effect ⁴. The major clinical limitation of using sealants is the possibility of long-term microleakage ⁵. This study aims to evaluate the microleakage of an experimental adhesive, TSealX, in human teeth.

Methodology

Ten human third molars without occlusal contacts, were used. They were stored in a thymol solution at room temperature and subsequently divided into 2 groups of five teeth each (Figure 1). The roots were sealed with varnish. In group 1, no acid etching was performed, and the TSealX adhesive (Figure 2) was applied directly along the fissures. In group 2, an 37% orthophosphoric acid was applied for 30 seconds, followed by water rinsing for 30 seconds and drying, then the TSealX adhesive was applied.

All groups were placed in distilled water for 24 hours and stored in an incubator at 37°C (Mettmert INE 400, Mettmert, Germany). Then the teeth were immersed in basic fuchsin for 24 hours. Excess dye was removed by rinsing the teeth in running water, drying, and immersing them in transparent self-polymerizing acrylic resin. They were sectioned longitudinally into 3 parts in the buccolingual direction, and the microleakage was evaluated using an x10 magnification Optika SLX Series Microscope (Optika Microscopes, Ponteranica, Italy) and classified in three categories: no microleakage, medium microleakage and full microleakage.



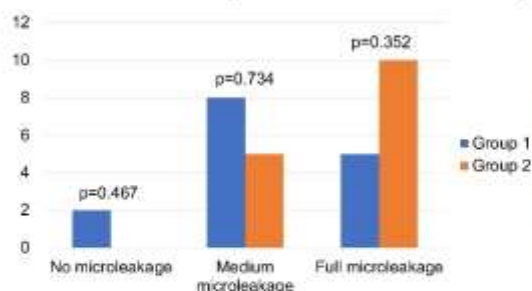
Figure 1: Group 1 (left) and Group 2 (right).



Figure 2: TSealX adhesive.

Results

Group 1 had 2 cases of no microleakage, 8 cases of medium microleakage (Figure 3), and 5 cases of full microleakage (Figure 4). In contrast, Group 2 had 5 cases of medium microleakage, and 10 cases of full microleakage. Fisher's Exact Test showed no significant differences between the groups ($p > 0.05$) (Graph 1).



Graph 1: Group 1 and 2 microleakage frequency across different microleakage levels. P-values indicate statistical significance (Fisher's Exact Test).



Figure 3: Medium microleakage sample.



Figure 4: Full microleakage sample.

Conclusions

The experimental adhesive TSealX showed different levels of microleakage depending on the surface treatment. Group 2 had a higher incidence of full microleakage, suggesting that the acid etching process may enhance the adhesive's penetration into the fissures but also increases the risk of long-term microleakage.

References



SCAN ME