

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

GUSTAVO CÉSAR FEITOSA VIDAL
EDSON PHILIPPE BEZERRA BALBINO

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO E HABILIDADE
DE SELAMENTO DE UM ADESIVO DENTAL COM PRÓPOLIS**



MACEIÓ-AL
2023-2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

GUSTAVO CÉSAR FEITOSA VIDAL
EDSON PHILIPPE BEZERRA BALBINO

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO À MICROTRAÇÃO E HABILIDADE
DE SELAMENTO DE UM ADESIVO DENTAL COM PRÓPOLIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para conclusão do curso de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof.ª Dr.ª Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto

MACEIÓ-AL

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

V648a Vidal, Gustavo César Feitosa.
Avaliação da resistência de união à microtração e habilidade de selamento de um adesivo dental com própolis / Gustavo César Feitosa Vidal, Edson Philippe Bezerra Balbino. – 2023.
33 f. : il.

Orientadora: Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia) –
Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Odontologia. Maceió,
2023.

Bibliografia: f. 27-33.

1. Agentes de união à dentina. 2. Própole. 3. Materiais biomédicos e odontológicos. 4. Adaptação marginal dentária. I. Balbino, Edson Philippe Bezerra. II. Título.

CDU: 616.314.14:638.135

AGRADECIMENTOS DO TCC

Agradecemos primeiramente a Deus, que sem ele tomando a frente de cada batalha não teríamos chegado até aqui.

Gostaríamos de agradecer aos nossos pais e irmãos, Edson, Quitéria, Matheus, Edilson, Odaléa e César, que não mediram esforços para nos ajudar em cada etapa da faculdade nos momentos altos e baixos, que abdicaram de momentos para se doar e garantir um futuro para nós. Bem como agradecemos com a conclusão desse trabalho certificando que não foi em vão toda essa trajetória por eles vivida, assim deixando claro nosso comprometimento e os honrando.

Agradecemos também as nossas namoradas e parceiras da vida, Yasmim e Mikaelen que durante essa caminhada, acompanharam cada etapa da nossa vida, que são confidentes, e sabem todas as dificuldades superadas, habilidades desenvolvidas, tristezas, alegrias, erros e acertos que tivemos durante o percurso, Bem como nossos amigos de escola, CESMAC, UFAL, que estão ao nosso lado torcendo por nós, mostrando-se pessoas resilientes, deixando os nossos dias mais leves na rotina conturbada da faculdade, que apareciam com alguma piada ou um ombro amigo.

Ainda, agradecer a nossa orientadora Dr^a Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto, por todo carinho, paciência, em nos pegar pelo braço e aceitar ser nossa orientadora nesse projeto de pesquisa tão rico, e dado oportunidade de fazermos ciência pela UFAL. Bem como os conselhos e puxões de orelha.

Assim como toda a equipe de Docentes da FOUFAL, pela qual temos um carinho enorme, assim como os funcionários ali presentes, que deixam tudo bem estruturado e organizado, para nos receber toda manhã.

Aos pacientes que confiaram em nós para fazermos procedimentos que algumas vezes, era feito pela primeira vez neles, mas sempre com toda responsabilidade, ética, estudo e acompanhamento responsável de cada Docente da FOUFAL.

Agradeço ao Edson, que foi e sempre será minha dupla e meu parceiro. Sou grato por tudo que aprendemos um com o outro nessa jornada. Pelo companheirismo e alegria que deixaram essa jornada mais leve. Foi uma honra tê-lo como dupla e ver o quanto cresceu e evoluiu durante essa trajetória.

Agradecemos pelo incentivo a pesquisa da FAPEAL e CNPq, que incentiva e possibilita a criação de ciência pelas universidades.

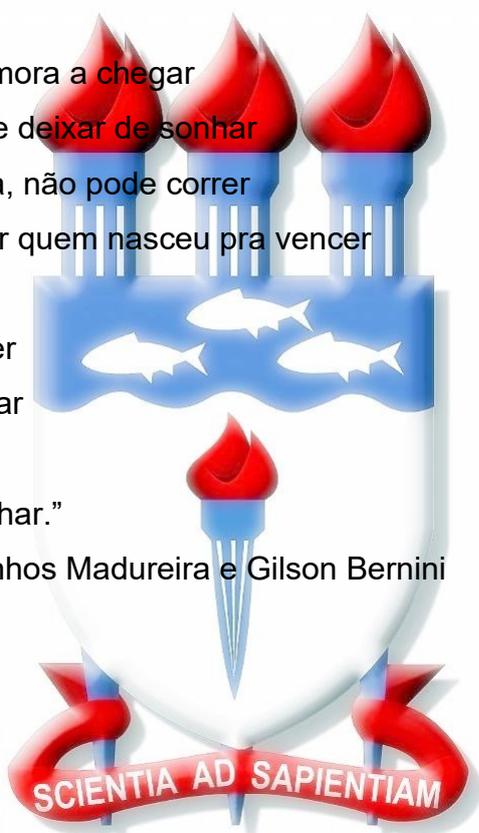
Por fim e não menos importante, gostaria de agradecer a Gustavo, que foi sinônimo de fortaleza, parceria, alegria e de caminhada nesses longos 06 anos, os quais o destino de forma irônica resolveu nos juntar duas vezes, no CESMAC e na FOUFAL, ele que é sinônimo de simpatia e um “vereador” nato, mas sem ele não teria chegado tão longe. Obrigado minha dupla por tudo, e pela caminhada, ou melhor por terminarmos só mais uma etapa de uma história que tem muito pela frente. Sim, nós conseguimos!

“Às vezes a felicidade demora a chegar
Aí é que a gente não pode deixar de sonhar
Guerreiro não foge da luta, não pode correr
Ninguém vai poder atrasar quem nasceu pra vencer

...

Na vida é preciso aprender
Se colhe o bem que plantar
É Deus quem aponta
A estrela que tem que brilhar.”

- Xande de Pilares; Carlinhos Madureira e Gilson Bernini



RESUMO

Introdução: Extrato de acetato de etila de Própolis vermelha de Alagoas (EAEPV) foi adicionado a um adesivo experimental à base de metacrilatos (EA) para se obter adesivos com própolis nas seguintes concentrações: 100 (EA PV100), 250(EA PV250) e 500 µg/mL (EA PV500). O adesivo Single Bond Universal (SB) (3M ESPE) e AE puro foram usados como controles. **Objetivo:** Esse estudo teve por objetivo analisar resistência de união e habilidade de selamento dentinário e coronal de um adesivo dental com própolis. **Material e métodos:** A resistência de união à microtração da interface adesiva foi medida 24h após o processo de adesão. A eficácia do selamento dentinário de adesivos com própolis foi avaliada em nanoescala (absorção de prata) e o selamento marginal coronal em microescala (microinfiltração do corante). Os dados foram submetidos ao teste F (ANOVA) um fator seguido do teste de Tukey para comparações pareadas ($\alpha=0,05$). **Resultados:** Foram obtidos adesivos experimentais de cor âmbar, rosado e viscosidade semelhante ao adesivo comercial utilizado no estudo. Os valores de resistência de união imediata variaram entre $28,94 \pm 9,25$ (EA PV100) a $39,09 \pm 9,60$ (SB) MPa. Comparando-se o adesivo comercial e os adesivos experimentais com própolis, notou-se redução significativa da resistência de união ($p \leq 0,05$). O adesivo experimental sem própolis teve desempenho semelhante ao adesivo comercial ($p=1,000$). **Conclusão:** A adição de nanopartículas de sílica e titânio não alterou a resistência de união imediata da interface dentina/resina. O adesivo AEPV 500 apresentou selamento dentinário e coronal melhor do que o adesivo comercial e o controle. A resistência de união à dentina dos adesivos foi reduzida pela adição de própolis. Porém, na concentração de 500 µg/mL de própolis apresentou o melhor selamento coronal, com desempenho superior ao controle e ao adesivo comercial.

Palavras-chave: Agentes de união à dentina; Própolis; Materiais odontológicos; Adaptação marginal dentária.

ABSTRACT

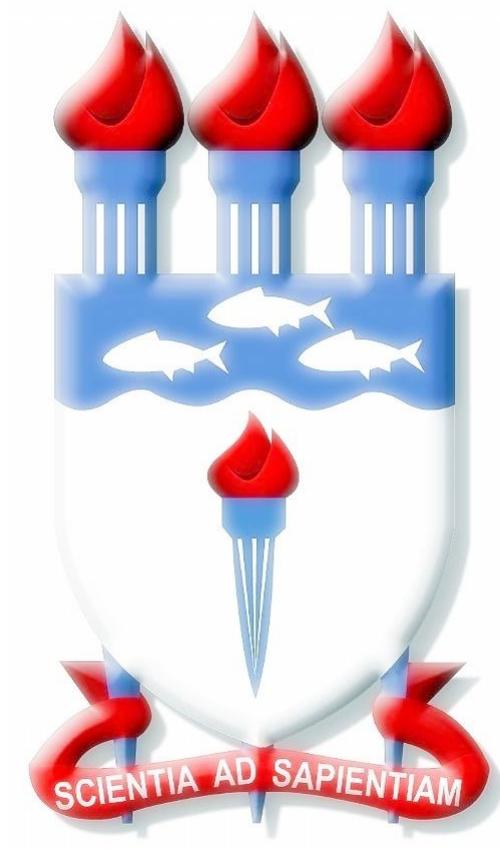
Introduction: Ethyl acetate extract of red propolis from Alagoas (EAEPV) was added to an experimental methacrylate-based adhesive (EA) to obtain adhesives with propolis at following concentrations: 100 (EA PV100), 250 (EA PV250) e 500 $\mu\text{g/mL}$ (EA PV500). Single Bond Universal adhesive (SB) (3M ESPE) and AE without propolis were used as controls. **Objective:** This study aimed to analyze both dentinal and coronal sealing ability and microtensile bond strength of a dental adhesive with propolis. **Material and methods:** The microtensile bond strength was measured 24 hours after the bonding process. The effectiveness of the dentin sealing of adhesives with propolis was evaluated at nanoscale (silver uptake) and coronal marginal sealing at microscale (dye microleakage). The data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($\alpha=0.05$). **Results:** An amber-pinkish experimental adhesive with appearance comparable to commercial adhesives were obtained. Immediate bond strength values ranged from 28.94 + 9.25 MPa (EA PV100) to 39.09 + 9.60 MPa (SB). Comparing SB and EA with propolis, a significant reduction in bond strength was noted ($p<0.05$). The EA without propolis had similar performance to SB ($p=1.000$). **Conclusion:** The addition of silica and titanium nanoparticles did not change the immediate bond strength of the dentin/resin interface. EA PV500 presented better dentinal and coronal sealing than the SB adhesive and the control. The dentin bond strength of the adhesives was reduced by the addition of propolis. However, at concentration of 500 $\mu\text{g/mL}$, the adhesive with propolis showed the best coronal sealing, with better performance than the control and the commercial adhesive.

Key-words: Dentin-bonding agents; Propolis; Dental materials; Dental marginal adaptation.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAL E MÉTODO.....	11
1. Obtenção do extrato de própolis.....	11
2. Preparo dos adesivos experimentais.....	11
3. Preparo dos dentes.....	12
4. Resistência à microtração da união dentina/resina.....	12
5. Análise do selamento dentinário (nanoinfiltração).....	13
6. Análise do selamento coronal (microinfiltração).....	13
7. Análise estatística.....	14
RESULTADOS.....	14
DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26
APÊNDICE.....	33
APÊNDICE A- SEQUÊNCIA DE ILUSTRAÇÕES DA METODOLOGIA USADA NESSE ESTUDO.....	34





MANUSCRITO

Avaliação da resistência de união à microtração e habilidade de selamento de um adesivo dental com própolis

Evaluation of microtensile bond strength and sealing ability of a dental adhesive with propolis

Gustavo César Feitosa **Vidal**¹

gustavo.vidal@foufal.ufal.br

Edson Philippe Bezerra **Balbino**¹

edson.balbino@foufal.ufal.br

Isabel Cristina Celerino de Moraes **Porto**²

isabel.porto@foufal.ufal.br

¹Aluno de graduação, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Alagoas, Campus AC Simões, Av. Lourival Melo Mota, S / N, Tabuleiro do Martins, Maceió, AL, Brasil.

²Professora de Dentística, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Alagoas, Campus AC Simões, Av. Lourival Melo Mota, S / N, Tabuleiro do Martins, Maceió, AL, Brasil.

Autor para correspondência:

Profa. Dra. Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Alagoas, FOUFAL

Av. Lourival Melo Mota, S/N, Tabuleiro do Martins, 57072-900 Maceió, Alagoas, Brasil.

isabel.porto@foufal.ufal.br .

Telefone: +55 82 32141162



INTRODUÇÃO

A restauração adesiva ideal deve apresentar uma adaptação firme e duradoura do material restaurador ao esmalte e à dentina. São eles os principais substratos dentários aos quais unimos materiais restauradores, como a resina composta. No entanto, unir o material simultaneamente a dois substratos dentários de natureza conflitante, representa o grande desafio da odontologia adesiva. A interação micromecânica dos adesivos com o esmalte é resultado da difusão e travamento de monômeros de resina nas microporosidades deixadas pela dissolução química ácida do esmalte. Ao contrário do esmalte, a dentina é um substrato úmido, com maior proporção de material orgânico e permeado pelo fluido dentinário, o que faz da dentina um tecido duro intrinsecamente úmido em toda a sua estrutura.¹

A adesão dentinária tem sido uma das tarefas mais desafiadoras e menos previsíveis na odontologia adesiva devido às diferenças dinâmicas de composição e histologia complexa da dentina. A capacidade de adesão ideal de materiais restauradores à dentina é afetada por muitos fatores, incluindo fatores biológicos e clínicos. Esses fatores incluem a idade do paciente, localização do dente na boca, profundidade e permeabilidade da dentina, fluxo de fluido pulpar, presença de dentina esclerótica e/ou cariada, dentina radicular versus coronal, tipo de material restaurador e sua aplicação, isolamento do campo operatório, experiência do dentista, dentre outros.¹

As resinas compostas são os materiais mais populares para restaurar as lesões de cárie devido à boa estética e possibilidade de tratamento minimamente invasivo. No entanto, para que sejam unidas aos tecidos dentários é necessário o uso de adesivos.²

A união entre o compósito e a estrutura dentária deve garantir a integridade marginal e a retenção da restauração durante as cargas funcionais, estresse térmico, sorção de água e alterações dimensionais.³ Um problema frequente nas restaurações de resina composta é a ocorrência de microinfiltração, especialmente naquelas áreas onde a resina está aderida às margens de dentina.

Os adesivos resinosos usados em Odontologia devem promover um perfeito vedamento da cavidade através de sua união aos tecidos dentais mineralizados, reduzindo, assim, a microinfiltração marginal. A microinfiltração é definida como uma passagem clinicamente indetectável de bactérias, fluidos, moléculas ou íons entre a parede da cavidade e a restauração.^{1,4,5} E, a interação desses fatores pode acelerar as falhas e degradação da união adesiva, resultando em menor durabilidade das restaurações.²

Diferentes abordagens durante os procedimentos restauradores adesivos têm sido introduzidas na tentativa de diminuir a microinfiltração, como a aplicação de diferentes estratégias de cura, a redução da força da contração de polimerização pela técnica de estratificação incremental, o uso de compósitos de baixa viscosidade, o tratamento da superfície e o desenvolvimento de novos sistemas adesivos.⁶⁻¹¹ Melhorias nos agentes de união podem contribuir para um perfeito selamento marginal e menos falhas nas margens cavitárias,¹² aumentando o tempo útil das restaurações adesivas na boca.

A própolis é um material resinoso natural, produzido por abelhas *Apis melliferas*, e apresenta uma composição complexa que depende basicamente das fontes vegetais acessíveis às abelhas, possuindo diversos tipos de atividades biológicas. Muitos estudos mostraram que a própolis apresenta ação anti-inflamatória e antimicrobiana, estimula a formação de dentina reparadora, reduz a permeabilidade dentinária, é ativa no tratamento e controle de cárie, abrevia a cicatrização dos tecidos orais e atenua a inflamação pulpar, o que pode ser útil na durabilidade da união adesiva.^{11,13-16}

A quebra do selamento da interface dentinária é um desafio para a longevidade das restaurações.¹⁷ A durabilidade da união à dentina depende da penetração efetiva dos monômeros na rede de colágeno e também do selamento hermético da cavidade. O material restaurador adesivo ideal deve ser resistente à degradação hidrolítica, inibir a ação de enzimas proteolíticas, apresentar boa resistência mecânica, ser biocompatível, ter ação antimicrobiana e remineralizadora. No entanto, apesar do grande desenvolvimento dos adesivos dentais, ainda não temos no mercado um material com todas essas características.¹⁸

Os adesivos dentais são colocados em íntimo contato com a dentina e o esmalte, funcionando como ponte de união entre o material restaurador e o tecido dental e, por isso, têm recebido atenção especial dos pesquisadores com a finalidade de melhorar a resistência e durabilidade da união no sítio da interface adesiva. Os testes com adesivos contendo própolis poderão acrescentar conhecimentos sobre o desempenho desse novo material, que serão importantes para fundamentar futuros estudos com esse material.

O objetivo desse estudo foi analisar a capacidade do selamento dentinário e coronal, e a resistência adesiva de um novo adesivo dental com própolis.

MATERIAL E MÉTODO

1. Obtenção do extrato de própolis

A própolis vermelha bruta foi coletada nos mangues do Estado de Alagoas, Brasil. O acesso e transporte da própolis foram previamente autorizados pelos órgãos reguladores para controle do Patrimônio Genético Brasileiro e Conservação da Biodiversidade com número de protocolo #A88DA2B. A extração da própolis vermelha alagoana (PVA) foi realizada por maceração em etanol 80%, obtendo-se o extrato etanólico de própolis vermelha bruta (EPVA). A extração líquido-líquido do extrato bruto foi realizada para eliminar graxas e ceras e se obter um extrato de acetato de etila (EAEPV) enriquecido com os flavonoides e isoflavonoides da PVA, conforme descrito por Porto et al 2021¹¹ e que foi utilizado em todos os experimentos deste estudo

2. Preparo dos adesivos experimentais

Um adesivo experimental de dois passos foi preparado misturando-se os monômeros hidroxietilmetacrilato (HEMA) e 2,2-bis[4-(2-hidroxi-3- metacriloxipropoxi)fenil]-propano (BisGMA) com uma razão de massas de 40/60. Etanol/Água (80/20 v/v) foram utilizados como solvente na concentração de até 10% (m/m), com um sistema fotoiniciador de dois componentes: canforoquinona (0.5%, m/m) e etil (4-dimetilamino) benzoato (0.5%, m/m). Os monômeros e o solvente foram misturados em tubos protegidos de luz e a seguir, aquecidos (68 °C) e homogeneizados em um agitador, alternando-se aquecimento e agitação. Os fotoiniciadores foram adicionados à mistura foi homogeneizada em agitador, em temperatura ambiente (22°C), para se obter a máxima eficiência na mistura. A este adesivo base, foram incorporados EAEPV e 1% de carga inorgânica, que consistia na mistura (50/50 m.m.) de nanopartículas de sílica (SiO₂) e dióxido de titânio (TiO₂) silanizadas, obtendo-se, como produto final, adesivos com EAEPV nas concentrações de 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1% de partículas de carga. O AE puro e o adesivo comercial Single Bond Universal (3M/ESPE, St. Paul, MN, USA) foram usados como controles em todas as etapas do experimento. Uma fonte de diodo emissor de luz (Emitter B; Schuster Com. Equip. Odontológicos Ltda, Santa Maria, Brasil - 1135 mW/cm²) foi utilizada para polimerização dos adesivos.

3. Preparo dos dentes

Foram utilizados 33 incisivos bovinos saudáveis. Os dentes foram limpos com curetas periodontais e polidos com uma pasta de pedra-pomes e água, aplicada com uma taça de borracha acoplada a um instrumento de baixa rotação. A raiz e a polpa foram removidas, e os dentes foram armazenados a 8 °C. A amostragem foi do tipo aleatório estratificado. Para a formação dos estratos (grupos), os dentes foram numerados, selecionados aleatoriamente e alocados em grupos usando o software PS-Sort - Porto Sample Sort (Porto-Filho CAB, Brasil), v.2.

4. Resistência à microtração da união dentina/resina

Foram utilizados 18 incisivos bovinos para os testes de microtração, distribuídos aleatoriamente em 6 grupos (n=3): G1: AE com PV100mg/mL (AE PV100), G2: AE com PV 250mg/mL (AE PV250), G3: AE com PV 500mg/mL (AE PV500), G4: AE sem própolis e sem carga (AE), G5: Single Bond 2 (SB), G6: AE sem própolis e com carga (AE Np). O 1/3 incisal dos dentes foram removidos e a câmara pulpar foi preenchida com resina composta após condicionamento ácido da dentina. A seguir, o esmalte da face vestibular foi removido e na dentina exposta foi criada uma *smear layer* padrão com lixa de carbetto de silício de gramatura 600 por 60s, girando-se ¼ de volta a cada 15 s, sob irrigação com água. Duas camadas de adesivo foram aplicadas de modo ativo na dentina condicionada com ácido fosfórico 37% por 15s, e depois aplicou-se um leve jato de ar por 5s para evaporar o solvente e o adesivo foi fotoativado por 10s. A seguir, a resina composta (Z 250XT 3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA. Cor A2) foi inserida em 2 incrementos de 2 mm, fotopolimerizados por 20 s cada um. Após 24h em água destilada a 37°C, os dentes foram seccionados longitudinalmente nas direções dos eixos x e y para se obter palitos com área de secção transversal de $1.0 \pm 0,1$ mm². O teste de resistência à microtração foi feito em uma máquina semi-universal (ODEME, Brasil) a uma velocidade de 0,5 mm/min até falhar. Os corpos de prova foram palitos de dentina/resina (n=30 por grupo). Não foi utilizado cálculo amostral, uma vez que foram consideradas as metodologias empregadas na literatura científica para estudos semelhantes e discriminada em publicações científicas da área.^{19,20} Esse quantitativo proporciona a dispersão dos dados em torno da média e permite ao estudo obter conclusões pertinentes à situação pesquisada. O modo de fratura foi avaliado em ampliação de 60X e categorizado em quatro grupos: Fratura coesiva em dentina (FD); Fratura coesiva em resina composta (FR); Fratura

adesiva (FA) quando a falha ocorrer na interface dentina/adesivo ou Fratura mista (FM) quando dois ou mais modos de fratura ocorrerem simultaneamente.

5. Análise do selamento dentinário (nanoinfiltração)

Dois palitos por grupo, preparados para o ensaio de microtração, foram cobertos com duas camadas de esmalte para unhas, deixando exposto apenas 1 mm para além da interface dente/restauração. Após a secagem do esmalte, as amostras foram imersas em água deionizada por 30 minutos antes da imersão em uma solução de nitrato de prata amoniacal 50% em peso (AgNO_3), sem luz, durante 24h. A solução de nitrato de prata amoniacal foi preparada pela dissolução de 25 g de cristais de nitrato de prata em 25 mL de água deionizada. Em seguida, o hidróxido de amônio a 28% foi gotejado sobre a solução de nitrato de prata para titular a solução, que, inicialmente, ficou transparente, passando a escura e depois tornou-se transparente novamente, pela transformação dos íons de amônio em íons de prata diamina. A solução resultante foi diluída em água deionizada até 50 mL de solução final, para se obter a concentração de nitrato de prata amoniacal a 50% com pH 9,5. Depois de 24h em solução de prata amoniacal, foram lavados com água destilada e imersos em solução de reveladora (Carestream Health, Rochester, NY, USA) por 8h sob luz fluorescente. As amostras foram embutidas em resina epóxi e polidas com lixas de SiC de granulação decrescente (600, 800, 1000 e 1200 Grit) e pastas diamantadas (3, 1 e 0,25 μm) e depois desidratadas, metalizadas com ouro e analisadas em MEV no modo de elétron retro transmitido a 20 kV.

6. Análise do selamento coronal (microinfiltração)

Foram utilizados 15 incisivos bovinos hígidos, aleatoriamente distribuídos em grupos ($n=3$) como descrito para o teste de microtração. Um preparo cavitário padronizado Classe V foi realizado na superfície vestibular dos dentes com ponta diamantada cilíndrica de extremo arredondado, em alta rotação (# 1141, KG Sorensen, Brasil) sob irrigação constante. Todos os preparos foram definidos com 2,0 mm de profundidade, distância mésio-distal de 4 mm e cérvico-incisal de 4 mm, posicionado a 2mm acima da junção amelo-cementária (JAC) e 2mm abaixo da JAC. Os preparos foram feitos por um único indivíduo treinado, em uma máquina de preparos cavitários padronizados (APC 100, Odeme Dental Research, SC, Brasil) e as pontas diamantadas foram substituídas a cada 5 preparos cavitários. Preparos com

exposição pulpar foram eliminados. A dentina foi condicionada com ácido fosfórico a 37% por 15 s, lavada com água e o excesso de água foi removido. Os adesivos experimentais e controle foram aplicados, seguido de um leve jato de ar e fotoativação por 10 s. Em seguida, foi feita a restauração com a resina Z250XT (3M/ESPE, MN, EUA. Cor A2), fotoativando-se cada incremento por 20 s. Após 24 horas foi feito o polimento da restauração discos de polimento (TDV, Pomerode, BR), com granulação média, fina e ultrafina. Os dentes restaurados foram selados com esmalte de unhas deixando livre 1 mm em volta das margens da restauração, depois foram imersos em Rodamina B 2%, pH 7,0, por 24 horas. A seguir, foram lavados em água corrente por 15 min e secos com papel absorvente, antes de serem seccionados no sentido disto-mesial produzindo 6 amostras por grupo. O grau de infiltração foi avaliado em microscópio estereoscópio 60x por três avaliadores calibrados (Teste de Kappa) considerando-se o mais severo grau de infiltração encontrado dentre os seguintes escores: 0-Nenhuma penetração do corante; 1-Infiltração do corante na interface dente/restauração até um terço além da parede cavitária; 2-Infiltração do corante na interface dente/restauração além de um terço e menos que dois terços além da parede cavitária; 3-Infiltração do corante na interface dente/restauração além de dois terços ou em toda extensão da parede cavitária; 4- Penetração do corante na parede axial.

7. Análise estatística

Foi realizado o teste Kappa ponderado para avaliar o grau de concordância entre os avaliadores do grau de microinfiltração coronária. Os dados da resistência de união e microinfiltração coronária foram submetidos ao teste F (ANOVA) um fator seguido do teste de Tukey para comparações pareadas. Os testes foram realizados com auxílio do software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 26. A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%.

RESULTADOS

Seguindo-se a metodologia proposta, foram obtidos adesivos experimentais de cor âmbar-rosado e viscosidade semelhante ao adesivo comercial utilizado no estudo.

1. Resistência de união à microtração

Na Figura 1 apresenta-se as médias da resistência de união imediata (24h). Comparando-se o adesivo comercial e os adesivos experimentais com própolis, notou-se

redução significativa da resistência de união ($p \leq 0,05$). O adesivo experimental sem própolis teve desempenho semelhante ao adesivo comercial ($p \geq 0,05$). A adição de nanopartículas de sílica e titânio não alterou a resistência de união imediata da interface dentina/resina. O tipo de fratura predominante para todos os grupos foi fratura adesiva (acima da camada híbrida), exceto no grupo AE PV500 onde predominou a fratura mista, (Figura 2). A Figura 3 mostra os critérios utilizados na avaliação do modo de fratura.

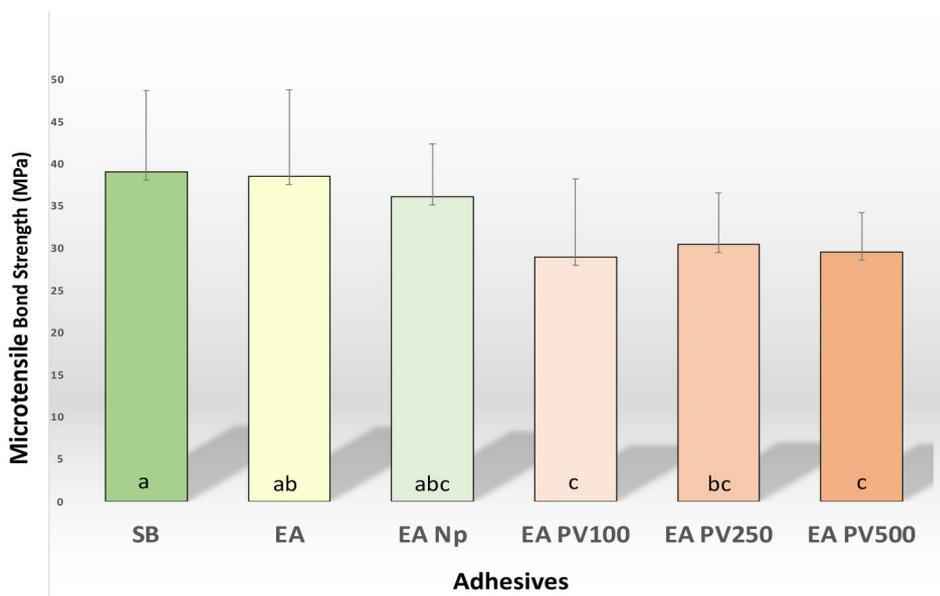


Figura 1 – Valores de resistência de união (MPa) 24h após a polimerização. SB: Single Bond 2; AE: Adesivo experimental sem carga e sem própolis; AE Np: Adesivo experimental com carga e sem própolis; AE PV100: Adesivo experimental com carga e com 100 ug/mL de própolis; AE PV250: Adesivo experimental com carga e com 250 ug/mL de própolis e AE PV500: Adesivo experimental com carga e com 500 ug/mL de própolis.

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística significativa (ANOVA e Tukey teste).

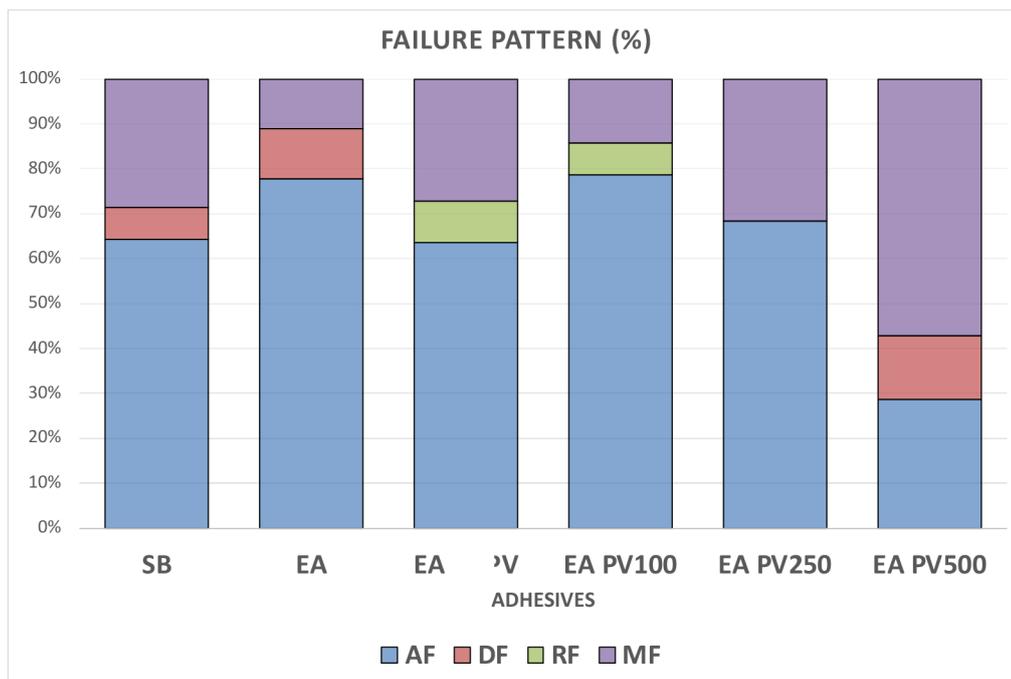


Figura 2 – Classificação e distribuição percentual dos padrões de fratura por grupo estudado. Fratura adesiva (FA) quando a falha ocorreu na interface dentina/adesivo Fratura coesiva em dentina (FD); Fratura coesiva em resina composta (FR) ou Fratura mista (FM) quando dois ou mais modos de fratura ocorreram simultaneamente. SB: Single Bond 2; AE: Adesivo experimental sem carga e sem própolis; AE Np: Adesivo experimental com carga e sem própolis; AE PV100: Adesivo experimental com carga e com 100 ug/mL de própolis; AE PV250: Adesivo experimental com carga e com 250 ug/mL de própolis e AE PV500: Adesivo experimental com carga e com 500 ug/mL de própolis.

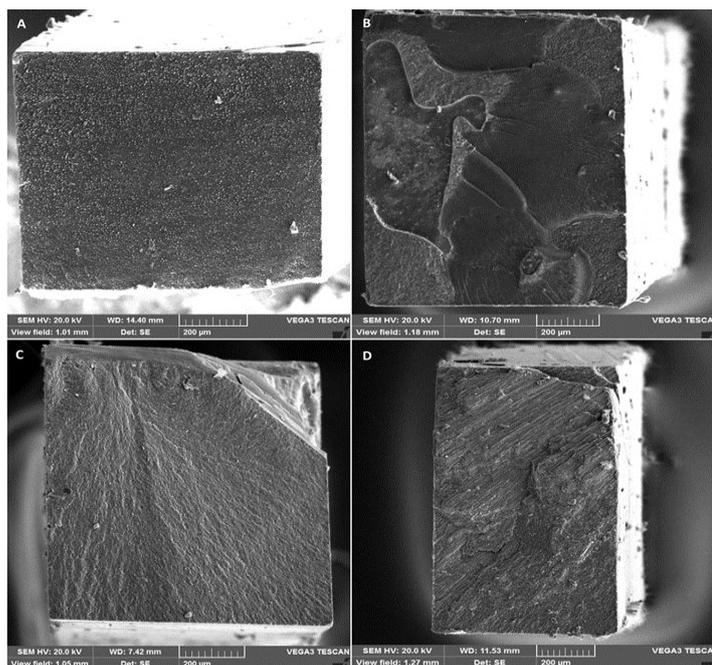


Figura 3 – Fotomicrografias ilustrando os padrões de fratura. **A:** Fratura adesiva, quando a falha ocorreu na interface dentina/adesivo; **B:** Fratura mista, quando dois ou mais modos de fratura ocorreram simultaneamente; **C:** Fratura coesiva em resina composta e **D:** Fratura coesiva em dentina.

2. Nanoinfiltração

Padrões típicos de nanoinfiltração nas interfaces resina-dentina para cada sistema adesivo dentinário são ilustrados na Figura 4. O adesivo AEPV 500 apresentou claramente menor quantidade de difusão de partículas de prata na interface adesiva do que os outros adesivos experimentais e controle. É possível observar nos adesivos AEPV 100 e AE PV250 depósitos de prata maior quantidade de prata distribuída sob a camada híbrida e muitos túbulos com deposição de prata entre os *tags* de resina e as paredes dos túbulos.

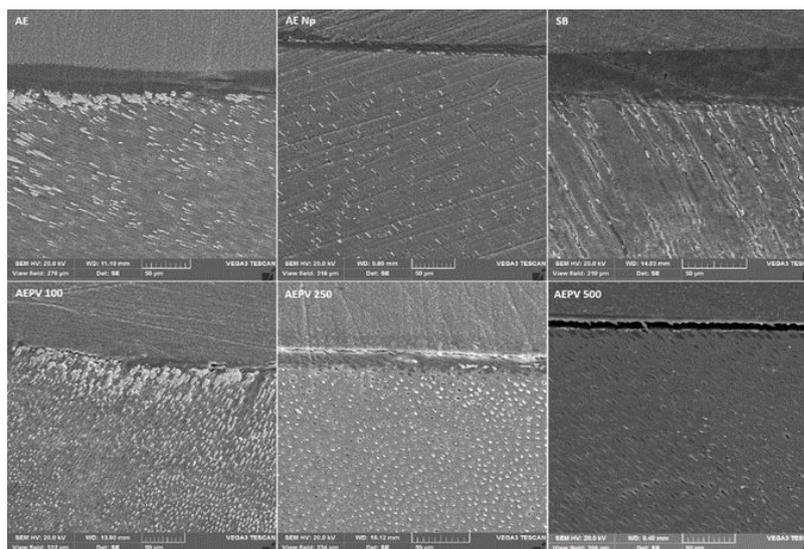


Figura 4 – Imagens de MEV da expressão de nanoinfiltração dos diferentes adesivos. Depósitos de prata foram observados na base camada híbrida. **AE**: Adesivo experimental sem carga e sem própolis; **SB**: Single Bond 2; **AE Np**: Adesivo experimental com carga e sem própolis; **AE PV100**: Adesivo experimental com carga e com 100 ug/mL de própolis; **AE PV250**: Adesivo experimental com carga e com 250 ug/mL de própolis e **AE PV500**: Adesivo experimental com carga e com 500 ug/mL de própolis.

3. *Análise do selamento coronal (microinfiltração)*

A confiabilidade entre os examinadores foi obtida usando-se o software estatístico SPSS, v.26 por meio do cálculo do Kappa ponderado. O valor do Kappa ponderado foi de 0,95, que indica um nível de concordância quase perfeito.

Os critérios para análise da microinfiltração estão apresentados na Figura 5. Em todos os grupos houve infiltração do corante nas paredes circundantes. Na Figura 6 apresenta-se os dados de microinfiltração após a análise estatística. Não houve diferença estatística significativa entre AE e AE PV250 ($p = 0,387$). Dentre os adesivos com própolis, notou-se o maior nível de infiltração no grupo AE PV250, com penetração do corante até a parede axial em 4/6 amostras analisadas. Os grupos AE PV100 e AE PV500 mostraram melhor selamento coronário do que AE (controle) e SB ($p \leq 0,05$).

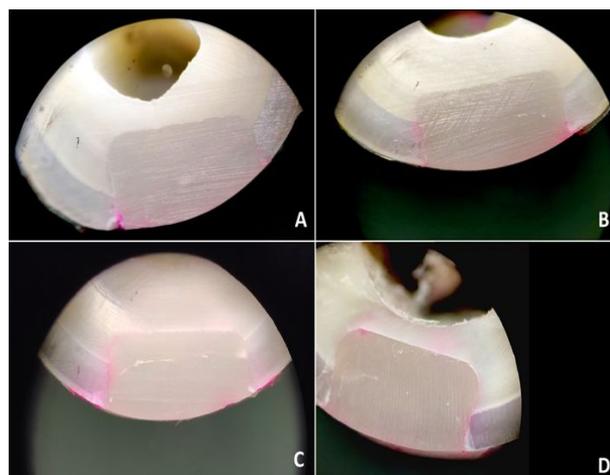


Figura 5 – Critérios de avaliação da penetração do corante na interface dente/restauração. A: Escore 1- Penetração do corante até 1/3; B: Escore 2 – Penetração do corante além de 1/3 e aquém de 2/3; C: Escore 3 - Penetração do corante além de 2/3; D: Escore 4 – Penetração do corante na parede axial.

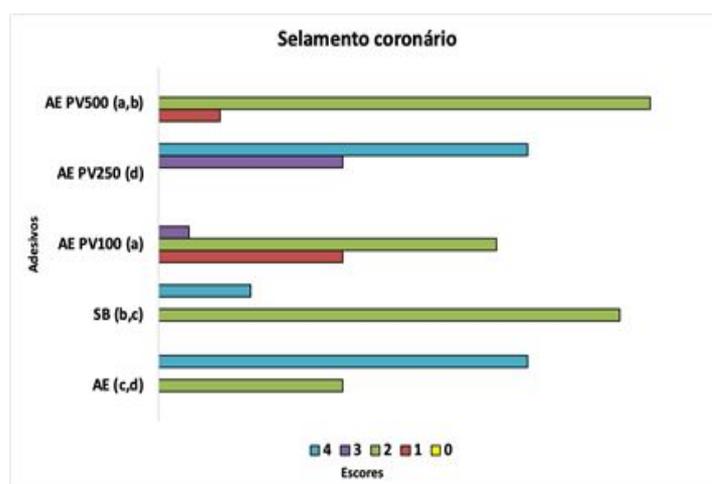


Figura 6 – Capacidade de selamento coronário dos diferentes adesivos testados. Escores: 0-Nenhuma penetração do corante; 1-Infiltração do corante na interface dente/restauração até um terço além da parede cavitária; 2-Infiltração do corante na interface dente/restauração além de um terço e menos que dois terços além da parede cavitária; 3-Infiltração do corante na interface dente/restauração além de dois terços ou em toda extensão da parede circundante; 4- Infiltração do corante na interface dente/restauração na parede axial. **AE**: Adesivo experimental sem carga e sem própolis; **SB**: Single Bond 2; **AE PV100**: Adesivo experimental com carga e com 100 ug/mL de própolis; **AE PV250**:

Adesivo experimental com carga e com 250 ug/mL de própolis e **AE PV500**: Adesivo experimental com carga e com 500 ug/mL de própolis.

Letras diferentes entre parênteses indicam diferença estatística significativa.

DISCUSSÃO

Esse é um dos raros estudos em que se adicionou própolis a adesivos dentinários. Considerando-se a literatura e os resultados dessa pesquisa, a adição de componentes naturais, como a própolis, em adesivos dentários pode ter efeitos potencialmente positivos nas propriedades mecânicas e adesivas desses materiais.¹¹ Enquanto a busca por alternativas naturais é válida, também é importante compreender os obstáculos envolvidos, e procurar equilibrar os benefícios potenciais dos componentes naturais com a manutenção das propriedades mecânicas. Esse é um desafio a ser considerado na formulação de novos adesivos dentários.

A própolis foi escolhida como adição ao adesivo dental devido às suas propriedades potencialmente interessantes em odontologia adesiva, que incluem ação anti-inflamatória, capacidade antioxidante e antimicrobiana, estimulação da formação de dentina reparadora, que são relevantes na preservação do elemento dental restaurado.

Estudos mostraram quantidades significantes de compostos fenólicos na propolis vermelha brasileira. Alguns deles permitem diferenciá-la de outras própolis e são conhecidos como biomarcadores (Liquiritigenin, isoliquiritigenin, formononetin, Biochanin A, genistein, daidzein, luteolin, naringenin, galangin, pinobanksin, pinocembrin and quercetin,^{21,22} e estão associados à atividade antibacteriana,^{13,23} anti-inflamatória^{24,25} e antioxidante^{11,21}, dentre outras.

A atividade antioxidante dos flavonoides depende de sua estrutura e pode ocorrer pela: (1) reatividade como agente doador de átomos de hidrogênio e elétrons, (2) estabilidade do radical flavanoíla produzido; (3) reatividade com outros antioxidantes, (4) capacidade de quelar metais de transição e (5) solubilidade e interação com as membranas celulares.²⁶ Os polifenóis também são capazes de estabilizar a cadeia de colágeno, aumentando o número de ligações cruzadas das fibrilas de colágeno reduzindo sua biodegradação.²⁷

A eficácia da própolis como antiinflamatório está relacionada a diversas frentes de atenuação da inflamação, reduzindo a expressão de genes inflamatórios e inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias e a modulação da resposta imune.²⁴ Os polifenóis bloqueiam a

síntese das prostaglandinas através da inibição de cyclooxygenase-2 (COX-2). Isto pode ser particularmente útil para a odontologia, porque a produção excessiva de COX-2 induz a ativação de MMPs.²⁵

MMPs são endopeptidases zinco e cálcio dependentes, que degradam componentes da matriz extracelular, e estão envolvidas no desenvolvimento dental, no processo de cárie dentinária nas fases iniciais da desmineralização. Alterações na estrutura do colágeno e das proteínas não colágenas podem reduzir das propriedades mecânicas e a capacidade de remineralização da dentina afetada por cárie. MMPs também estão envolvidas na degradação da camada híbrida em restaurações de resina composta,^{28,29} degradando o colágeno que foi exposto e não recoberto com o sistema adesivo. Assim, a inibição das MMPs é crucial para a preservação da integridade da matriz dentinária e da interface adesiva.

Além disso, a própolis também possui a capacidade de estimular a formação de dentina reparadora, o que é benéfico para a regeneração dos tecidos dentários, principalmente em cavidades muito profundas. Estudos com própolis mostraram resultados comparáveis ou superiores aos materiais convencionais Dycal e MTA em termos de resposta pulpar, formação de pontes de dentina e ação anti-inflamatória. Possivelmente, as propriedades anti-inflamatória e cicatrizante da própolis tenham contribuído para uma resposta positiva na formação de dentina.^{30,31}

O entendimento de que era necessário eliminar a contaminação microbiana de uma cavidade antes da colocação da restauração foi substituído pelo conhecimento atual de que a manutenção de dentina contaminada sob as restaurações é inevitável e não está associada à falha do tratamento. Assim, a remoção seletiva de cárie em dentina amolecida em sessão única vem sendo recomendada para lesões de cárie profundas visando preservar a vitalidade dentária.³² Nesse contexto, a própolis se destaca por sua atividade antimicrobiana. Em especial contra *S. mutans*, *Lactobacillus*, *E. faecalis*, dentre outras bactérias.^{13,23}

Portanto, a adição de própolis ao adesivo dental foi pensada com o objetivo de aumentar a resistência da matriz dentinária, promover a regeneração de tecidos e reduzir a ação das MMPs. Essas propriedades podem desempenhar um papel importante na melhoria da eficácia e durabilidade dos adesivos dentais, contribuindo para o sucesso das restaurações odontológicas.¹¹

Embora a adição de própolis possa conferir benefícios em termos de propriedades antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana, é importante entender que sua interação com os componentes do adesivo pode ter efeitos não desejados e que ainda precisam ser

elucidados. Cada adesivo em combinação com aditivos pode apresentar respostas diferentes, e mais pesquisas são necessárias para otimizar a incorporação de própolis ou outros compostos sem comprometer a integridade da união adesiva.

Lenzi et al (2013)³³, mostraram que, em média, o diâmetro dos túbulos dentinários corresponde a $2,4 \pm 0,07 \mu\text{m}$ na camada dentinária superficial, $3,70 \pm 0,06 \mu\text{m}$ na dentina média e $4,28 \pm 0,04 \mu\text{m}$ na dentina profunda, próxima à câmara pulpar. Nesse estudo utilizamos partículas de carga com tamanho de 20 nm, compatível com o diâmetro dos túbulos dentinários, permitindo que as partículas de carga possam escoar junto com a resina adesiva para dentro dos túbulos.

A adição de carga no adesivo aumenta sua viscosidade e diminui seu escoamento, além de produzir uma camada híbrida mais espessa, a qual é capaz de absorver a tensão de contração da resina. Tendo em vista algumas contraindicações dessa maior espessura, alguns fabricantes começaram a produzir adesivos com nanocarga.³⁴

Adesivos com carga apresentam maior resistência na união^{34,35} e evita que o adesivo se espalhe além da área desejada, no entanto, não devem ter um alto percentual de carga porque isso influenciaria negativamente na penetração do adesivo, prejudicando a formação da camada híbrida^{36,37}. Nesse estudo, nota-se que a quantidade de 1% de nanopartículas (20nm) de sílica e dióxido de titânio foi adequada para permitir a infiltração na camada híbrida e reforçar a união adesiva, uma vez que o adesivo com nanopartículas teve desempenho semelhante ao grupo controle.

Contudo, houve maior número de fratura adesiva, predominantemente no topo da camada híbrida, em todos os grupos testados, exceto no grupo AE PV500. Nos adesivos com própolis houve diminuição do percentual de fraturas adesivas inversamente proporcional à concentração de própolis no adesivo. A predominância de fraturas adesivas ou de fraturas mistas em um ensaio de microtração em materiais adesivos é uma indicação importante da qualidade e eficácia da adesão entre o material adesivo e o substrato. Fraturas adesivas apontam para uma baixa adesão entre os materiais, enquanto fraturas mistas podem sugerir deficiências tanto na adesão quanto na resistência do material. O conhecimento desses padrões de falha é essencial para aprimorar os materiais adesivos utilizados em diversas aplicações, incluindo a odontologia, garantindo restaurações duráveis e confiáveis. Porto et al. (2021)¹¹ mostraram que adesivos com própolis formam uma camada híbrida adequada, o que possivelmente ocorreu nesse estudo, no entanto a adesão da resina restauradora parece ter sido mais frágil, facilitando a fratura na interface adesivo/resina.

Nesse estudo, os adesivos SB, AE e AENp apresentaram uma resistência adesiva similar entre eles e significativamente maior do que os adesivos com própolis. Na literatura, os valores médios de resistência à microtração do adesivo comercial SB variam desde 22,27 MPa¹⁹ até 48,05 MPa²⁰. Esses estudos corroboram os resultados dos adesivos experimentais com própolis AE PV100 (28,94 MPa), AE PV250 (30,47 MPa) e AE PV500 (29,58 MPa), e sugere que os adesivos com própolis apresentam potencial para fornecer uma adesão eficaz.

A nanoinfiltração é geralmente considerada um guia relevante para estimar a capacidade de selamento da dentina e a eficácia da ligação de um sistema adesivo. Idealmente, espera-se que os sistemas adesivos reduzam completamente a permeabilidade da dentina. Neste estudo, o sistema adesivo de nenhum dos grupos foi capaz de reduzir completamente a permeabilidade dentinária produzida após o condicionamento, e todos os grupos apresentaram nanoinfiltração, independente da composição do adesivo utilizado. O adesivo com 500 µg/mL de própolis apresentou a melhor competência de selamento dentinário imediato. Ao passo que, os adesivos com própolis nas concentrações de 100 e 250 µg/mL apresentaram maior captação de prata, mostrando menor habilidade para selamento da dentina. A nanoinfiltração pode ser aumentada tanto mais quanto maior for a camada de fibrilas de colágeno não infiltradas.

Embora tenha sido demonstrado que não há concordância entre infiltração marginal e resistência de união^{38,39}, este último tem sido sistematicamente empregado como o método preferido para avaliar a eficácia da união do sistema adesivo e inferir associações com o desempenho clínico de restaurações de resina composta.

A longevidade de uma restauração é dependente, também, do selamento entre o material e as paredes cavitárias.⁴Nesse estudo o melhor selamento coronário foi dado pelos adesivos com própolis nas concentrações de 100 e 500 µg/mL, e os resultados dos grupos SB, AE, AE Np e Np250 foram semelhantes. Embora todas as restaurações tenham sido feitas por um único indivíduo, alguma variação técnica pode ter ocorrido. Além disso, o efeito de contração de polimerização e as tensões associadas que são geradas da fotopolimerização da resina composta, podem ser mais fortes do que a resistência de união e colaborar para a criação de lacunas, favorecendo a presença de falhas adesivas e, conseqüentemente, microinfiltração na margem de união entre o dente e a resina.

A associação de fendas marginais e a conseqüente microinfiltração com o início de cárie secundária, tem sido frequentemente reportada.^{41,42} Portanto, testes de microinfiltração são empregados para avaliar a eficácia das restaurações. Existem diferentes métodos para

avaliar microinfiltração, tais como, penetração de corantes, infiltração de isótopos radioativos, extração de corantes e cultura bacteriana.⁴³

A avaliação de microinfiltração com penetração de corante tem a vantagem de ser de baixo custo, e pela observação direta é possível avaliar a profundidade da infiltração ao microscópio.⁴⁴ Os corantes mais amplamente utilizados são o azul de metileno e a rodamina B. Entretanto, é necessário estar atento à escolha do corante utilizado. O peso molecular ($319,85 \text{ g.mol}^{-1}$) mais baixo e o diâmetro menor do que a maioria das células bacterianas tornam o azul de metileno o corante preferido (de Almeida et al., 2003).⁴⁵ Mas também, o menor tamanho das moléculas do azul de metileno (área molecular de $0,52 \text{ nm}^2$) pode provocar a superestimação da microinfiltração.⁴³ Nesse estudo utilizamos Rodamina B 2% (peso molecular $479,02 \text{ g.mol}^{-1}$) para avaliar a microinfiltração em torno de restaurações classe V devido ao pequeno tamanho de partícula (área molecular de $1,75 \text{ nm}^2$), adequada penetração, boa solubilidade em água, difusibilidade e não reatividade de tecidos duros.^{46,47}

A microinfiltração é a permeabilidade no espaço entre o material restaurador e as paredes da cavidade, que permite a infiltração de microrganismos, moléculas e íons, podendo causar cáries recorrentes, inflamação na polpa e descoloração marginal. Pode ser causada por oscilações nas estruturas físicas envolvidas (dente/material restaurador), dentre outras, a contração de polimerização da resina composta, coeficiente de expansão térmica e o módulo de elasticidade.⁴⁸

Nesse estudo, foi desenvolvido um adesivo experimental convencional, que exige condicionamento ácido do esmalte e da dentina. Adesivos que são aplicados através da técnica de condicionamento ácido total do esmalte e da dentina apresentam maior microinfiltração do que os sistemas autocondicionantes.^{47,49} Além disso, segundo Jain et al (2022), outros fatores que podem influenciar na microinfiltração nos dentes são o fator C, falha no bisel do esmalte, composição e estrutura da dentina dental em cavidades classe V. Nesse estudo o preparo cavitário foi padronizado, e durante o procedimento restaurador, foi empregada a técnica de fotoativação gradual e inserção da resina em incrementos para otimizar a restauração. Além disso, as pontas diamantadas foram substituídas a cada cinco preparos. Emir et al. (2018) e Porto et al. (2014) mostraram que após o quinto preparo cavitários as pontas diamantadas perdem seu corte, devido ao desgaste e/ou perda das partículas diamante, que deixam a superfície menos rugosa.

Este foi um estudo *in vitro* para avaliar a resistência de união e capacidade de selamento de um novo adesivo dental. Estudos laboratoriais são essenciais na pesquisa

odontológica, pois marcam o desenvolvimento e conhecimento científico sobre materiais dentários, substâncias bioativas, dentre outras. No entanto, qualquer avanço laboratorial deve ser validado em ambiente clínico, uma vez que muitas outras variáveis estão envolvidas e podem contribuir sinergicamente para a longevidade da restauração

CONCLUSÃO

A resistência de união à dentina dos adesivos foi reduzida pela adição de própolis. A nanoinfiltração não foi eliminada em nenhum dos grupos, mas os adesivos com própolis na concentração de 500 µg/mL de própolis apresentaram o melhor selamento coronal e dentinário, com desempenho superior ao controle e ao adesivo comercial.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Perdigão J. Current perspectives on dental adhesion: (1) Dentin adhesion - not there yet. *Jpn Dent Sci Rev* 2020;56:190-207.
2. Zhou W, Liu S, Zhou X, Hannig M, Rupf S, Feng J, et al. Modifying adhesive materials to improve the longevity of resinous restorations. *Int J Mol Sci* 2019;20:723.
3. Mjör IA, Shen C, Eliasson ST, Richter S. Placement and replacement of restorations in general dental practice in Iceland. *Oper Dent* 2002;27:117-123.
4. Van Dijken JWV, Pallesen U, Benetti A. A randomized controlled evaluation of posterior resin restorations of an altered resin modified glass-ionomer cement with claimed bioactivity. *Dent Mater* 2019;35:335-343.
5. Zotti F, Falavigna E, Capocasale G, De Santis D, Albanese M. Microleakage of direct restorations-comparison between bulk-fill and traditional composite resins: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Dent* 2021;15:755-767.
6. Alomari QD, Barrieshi-Nusair K, Ali M. Effect of C-factor and LED curing mode on microleakage of Class V resin composite restorations. *Eur J Dent*;2011;5:400-408.
7. Atoui JA, Chinelatti MA, Palma-Dibb RG, Corona SAM. Microleakage in conservative cavities varying the preparation method and surface treatment. *J Appl Oral Sci* 2010;18:421-425.
8. Lühns AK, Guhr S, Schilke R, Borchers L, Geurtsen W, Günay H. Shear bond strength of self-etch adhesives to enamel with additional phosphoric acid etching. *Oper Dent* 2008;33:155-162.
9. Mousavinasab SM, Atai M, Alavi B. To compare the microleakage among experimental adhesives containing nanoclay fillers after the storages of 24 hours and 6 months. *Open Dent J* 2011;5:52-57.

10. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent* 2007;9:7-10.
11. Porto ICCM, Rocha ABB, Ferreira IIS, de Barros BM, Ávila EC, da Silva MC, et al, Polyphenols and Brazilian red propolis incorporated into a total-etching adhesive system help in maintaining bonding durability. *Heliyon* 2021;7:e06237.
12. Kimyai S, Mehdipour M, Savadi Oskoe S, Alizadeh Oskoe P, Abbaszadeh A. Reasons for retreatment of amalgam and composite restorations among the patients referring to Tabriz faculty of dentistry. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2007;1:27-31.
13. Porto ICCM, Almeida DCC, Costa GVCO, Donato TSS, Nunes LM, Nascimento TG, et al. Mechanical and aesthetics compatibility of Brazilian red propolis micellar nanocomposite as a cavity cleaning agent. *BMC Complement Altern Med* 2018;18:219.
14. Chen CL, Parolia A, Pau A, Porto ICCM. Comparative evaluation of the effectiveness of desensitizing agents in dentine tubule occlusion using scanning electron microscopy. *Aust Dent J* 2015;60:65-72.
15. Zuhendri F, Felitti R, Fearnley J, Ravalía M. The use of propolis in dentistry, oral health, and medicine: A review. *J Oral Biosci* 2021;63:23-34.
16. Kale Y, Yadav S, Dadpe M, Dahake P, Kendre S. Bioinductive and anti-inflammatory properties of propolis and Biodentine on SHED. *Saudi Dent J* 2022;34:544-552.
17. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater* 2012;28:72-86.
18. Porto ICCMP; Lôbo TLGF; Rodrigues RF, Lins RBE, Silva MAB. Insight into the development of versatile dentin bonding agents to increase the durability of the bonding interface. *Front. Dent. Med* 4:1127368.
19. Gré CP, Andrada MAC, Monteiro Júnior S. Microtensile bond strength of a universal adhesive to deep dentin. *Braz Dent Sci* 2016;19:106-107.

20. Schoenhals GP, Berft CL, Naufel FS, Schmitt VL, Chaves LP. Bond strength assessment of a universal adhesive system in etch-and-rinse and self-etch modes. *Rev Odontol UNESP* 2019;48:e20190083.
21. Mendonça ICG, Porto ICCM, Nascimento TG, Souza NS, Oliveira JM, Arruda RE, et al. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complement Altern Med* 2015;15:357.
22. Nascimento TG, Arruda RES, Almeida ETC, Oliveira JMS, Basílio-Júnior ID, Porto ICCM, et al. Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. *Sci Rep* 2019;9:18293.
23. Bhavani GD, Rathod T, Parveen N, Tirupathi P, Dharavattu P, Sekhar V, et al. Assessment of the antimicrobial effectiveness of herbal root canal irrigants (Propolis, Triphala, and Aloe Vera) and chlorhexidine against *Enterococcus Faecalis*. *Cureus* 2023;15:e41628.
24. Santos FF, Morais-Urano RP, Cunha WR, Almeida SG, Cavallari PSDSR, Manuquian HA, et al. A review on the anti-inflammatory activities of Brazilian green, brown and red propolis. *J Food Biochem* 2022;46:e14350.
25. Calabriso N, Massaro M, Scoditti E, Pellegrino M, Ingrosso I, Giovinazzo G, et al. Red grape skin polyphenols blunt matrix metalloproteinase-2 and -9 activity and expression in cell models of vascular inflammation: protective role in degenerative and inflammatory diseases. *Molecules* 2016;21:1147.
26. Mondal S, Rahaman ST. Flavonoids: a vital resource in healthcare and medicine. *Pharm Pharmacol Int J* 2020;8:91-104.
27. Neri JR, Yamauti M, Silveira FD, Mendonça JS, de Carvalho RM, Santiago SL. Influence of dentin biomodification with epigallocatechin-3-gallate on the bond strength of self-etch adhesive: twelve-month results. *Int J Adhes Adhes* 2016;71:81-86.

28. Zhang SC, Kern M. The role of host-derived dentinal matrix metalloproteinases in reducing dentin bonding of resin adhesives. *Int J Oral Sci* 2009;1:163-176.
29. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res* 2015;94:241-251.
30. Parolia A, Kundabala M, Rao NN, Acharya SR, Agrawal P, Mohan M, et al. Comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Aust Dent J* 2010;55:59-64.
31. Nasri Z, Jahromi MZ, Aminzadeh A. Clinical and histological response of human pulp tissue to direct pulp capping with mineral trioxide aggregate, Biodentine and propolis. *Dent Res J (Isfahan)* 2022;19:40. eCollection 2022.
32. Maltz M, Jardim JJ, Alves LS. Chapter 9.3: Current concepts of caries removal in daily practice. *Monogr Oral Sci* 2023;31:172-187.
33. Lenzi TL, Guglielmi CAB, Arana-Chavez VE, Raggio DP. Tubule density and diameter in coronal dentin from primary and permanent human teeth. *Microsc Microanal* 2013;19:1445-1449.
34. Alhenaki AM, Attar EA, Alshahrani A, Farooq I, Vohra F, Abduljabbar T. Dentin bond integrity of filled and unfilled resin adhesive enhanced with silica nanoparticles-An SEM, EDX, Micro-Raman, FTIR and micro-tensile bond strength study. *Polymers (Basel)* 2021;13:1093.
35. Kim JS, Cho BH, Lee IB, Um CM, Lim BS, Oh MH, et al. Effect of the hydrophilic nanofiller loading on the mechanical properties and the microtensile bond strength of an ethanol-based one-bottle dentin adhesive. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;72:284-291.

36. Rudawska A, Worzakowska M, Bociąga E, Olewnik-Kruszkowska E. Investigation of selected properties of adhesive compositions based on epoxy resins. *Int J Adhes Adhes* 2019;92:22-36.
37. Marques AC, Mocanu A, Tomić NZ, Balos S, Stammen E, Lundevall A, et al. Review on adhesives and surface treatments for structural applications: recent developments on sustainability and implementation for metal and composite substrates. *Materials (Basel)* 2020;13:5590.
38. Dutra DJ, Branco NT, Alvim HH, Magalhães CS, Oliveira RR, Moreira AN. Bond strength of two universal adhesive systems to human dentin using different strategies. *Acta Odontol Latinoam* 2022;35:155-163.
39. Guzman-Armstrong S, Armstrong SR, Qian F. Relationship between nanoleakage and microtensile bond strength at the resin–dentin interface. *Oper Dent* 2003;28:60-66.
40. Roggendorf MJ, Krämer N, Appelt A, Naumann M, Frankenberger R. Marginal quality of flowable 4-mm base vs. conventionally layered resin composite. *J Dent* 2011;39:643-647.
41. Totiam P, González-Cabezas C, Fontana MR, Zero DT. A new in vitro model to study the relationship of gap size and secondary caries. *Caries Res* 2007;41:467-473.
42. Borouziniat A, Khaki H, Majidinia S. Retrospective evaluation of the clinical performance of direct composite restorations using the snow-plow technique: Up to 4 years follow-up. *J Clin Exp Dent* 2019;11:e964-e968.
43. AlHabdan AA. Review of microleakage evaluation tools. *J Int Oral Health* 2017;9:141-145.
44. Heintze SD, Thunpithayakul C, Armstrong SR, Rousson V. Correlation between microtensile bond strength data and clinical outcome of Class V restorations. *Dent Mater* 2011;27:114-125.

45. de Almeida JB, Platt JA, Oshida Y, Moore BK, Cochran MA, Eckert GJ. Three different methods to evaluate microleakage of packable composites in Class II restorations. *Oper Dent* 2003;28:453-460.
46. Ashwini KS, Devadiga D, Hegde MN. Evaluation of microleakage of four root canal sealers – a fluorescent microscope study. *J Evolution Med Dent Sci* 2020;9:3800-3805.
47. Hui LE, Thomas MS, Jathanna V, Lewis AJ, Srikant N. Effect of caries detecting dye on microleakage of composite resin restorations bonded with total-etch and self-etch adhesive systems. *J Clin Diag Res* 2019;13: ZC01-ZC03.
48. Patanjali S, Arora A, Arya A, Grewal MS. An *in vitro* study of effect of beveling of enamel on microleakage and shear bond strength of adhesive systems in primary and permanent teeth. *Int J Clin Pediatr Dent* 2019;12:205-210.
49. Gupta A, Tavane P, Gupta PK, Tejolatha B, Lakhani AA, Tiwari R, et al. Evaluation of microleakage with total etch, self etch and universal adhesive systems in Class V restorations: An *in vitro* study. *J Clin Diagn Res* 2017;11:ZC53-ZC56.
50. Jain K, Katge F, Poojari M, Shetty S, Patil D, Ghadge S. Comparative evaluation of microleakage of bioactive, ormocer, and conventional GIC restorative materials in primary molars: an *in vitro study* microleakage of three restorative materials. *Int J Dent* 2022;2022: 7932930.
51. Emir F, Ayyildiz S, Sahin C. What is the changing frequency of diamond burs? *J Adv Prosthodont* 2018;10:93-100.
52. Porto ICCM, Correia JC, Silva Filho SB. Microscopic changes on morphology of diamond coated dental burs as consequence of multiple uses. *Indian J Rest Dent* 2014;3:62-71.

APÊNDICE A- SEQUÊNCIA DE ILUSTRAÇÕES DA METODOLOGIA USADA NESSE ESTUDO

- ➔ 12 dentes, 6 grupos;
- ➔ Incrementos de resina de 4mm
- ➔ Corte das amostras



Figura 1. Incrementos de resina composta. (Arquivo pessoal)

Resistência à microtração da união dentina/resina

- O modo de fratura foi avaliado em ampliação de 60X e categorizado em quatro grupos.

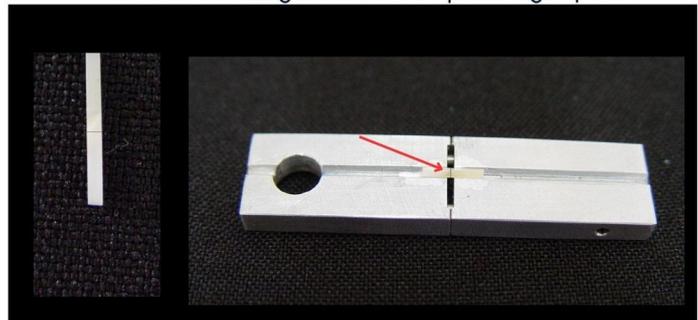


Figura 2. Microtração

(Arquivo pessoal)

Análise do Selamento Coronal (microinfiltração)



Fig 3. preparo da cavidade



Fig 4. preparo da cavidade



Fig 5 e 6. preparo da cavidade

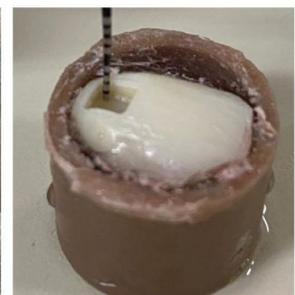


Fig 7. preparo da cavidade

Preparos com exposição pulpar foram eliminados

(Arquivo pessoal)

Avaliação da Microinfiltração pela Penetração do Corante

- Os dentes foram pintados com esmalte de unha deixando uma margem livre de 1mm da restauração
- Foram imersos em Rodamina B 2%, pH 7,0 por 24 horas
- Lavados em água corrente por 15min e secos com papel absorvente
- Foi seccionado em duas partes no sentido disto-mesial



Fig 8. Dente pintado com 1mm livre da restauração



Fig 9. imersão em Rodamina B 2%



Fig 10. Dente seccionado na posição disto-mesial

(Arquivo pessoal)