



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Odontoiatria e Protesi Dentaria
Presidente: Prof. Maurizio Procaccini

**ANALISI DEL MICROLEAKAGE
NELLE SECONDE CLASSI
MEDIANTE SEM E MICRO-CT**

Relatore: Chiar.mo
Prof. Angelo Putignano

Tesi di Laurea di:
Flavia Vitiello

Correlatore: Chiar.ma
Prof.ssa Giovanna Orsini

Correlatore: Chiar.ma
Prof.ssa Alessandra Giuliani

A.A. 2019/2020

INDICE

INTRODUZIONE.....	1
1. I COMPOSITI IN ODONTOIATRIA.....	4
1.1. COMPOSIZIONE.....	4
1.1.1. Matrice Polimerica.....	5
1.1.2. Modulatori di polimerizzazione.....	6
1.1.3. Riempitivo.....	9
1.1.4. Agenti accoppianti.....	10
1.2. CLASSIFICAZIONE.....	11
1.3. PROPRIETÀ.....	14
1.4. FATTORI CHE INFLUENZANO IL SUCCESSO DEL RESTAURO.....	16
2. TECNICHE DI RIEMPIMENTO.....	19
3. USO DELLA MICROTOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA (μ-CT).....	23
3.1. PRINCIPI DI BASE.....	23

4.	USO DEL MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM).....	26
4.1.	PRINCIPI DI BASE.....	26
5.	PARTE SPERIMENTALE.....	28
5.1.	MATERIALI E METODI.....	29
5.1.1.	Preparazione del campione.....	29
5.1.2.	Procedura di restauro.....	30
5.1.3.	Analisi μ -CT.....	33
5.1.4.	Analisi SEM.....	39
5.1.5.	Analisi Statistica.....	41
5.2.	RISULTATI.....	42
5.2.1.	Risultati analisi μ -CT.....	42
5.2.2.	Risultati analisi SEM.....	46
5.2.3.	Risultati analisi statistica.....	50
6.	DISCUSSIONE.....	54
7.	CONCLUSIONI.....	61
8.	BIBLIOGRAFIA.....	62
9.	MATERIALE SUPPLEMENTARE.....	71

INTRODUZIONE

La carie dentale rappresenta una delle malattie più diffuse al mondo e costituisce, ancora oggi, una delle principali sfide per il clinico (Wagle et al., 2018). In odontoiatria restaurativa, il trattamento standard di una lesione cariosa consiste nella rimozione del tessuto dentale compromesso, seguita dal suo restauro mediante materiale composito in resina. Infatti, i compositi sono diventati sempre più diffusi grazie allo sviluppo di materiali innovativi e tecniche di riempimento semplificate. Nonostante le numerose ricerche in corso per ottenere compositi con caratteristiche ottimali, lo stress da contrazione da polimerizzazione (PSS) rappresenta ancora oggi il problema più significativo (Braga et al., 2005). Infatti, il PSS riduce la forza del legame adesivo e ciò comporta implicazioni cliniche negative come la sensibilità post-operatoria, crepe dello smalto e la formazione di gap marginale, quindi un possibile sviluppo di carie secondaria (El-Sahn et al., 2011; El-Damanhoury and Platt, 2014). Al fine di limitare il PSS, sono state introdotte tecniche di riempimento incrementale, in base alle quali gli strati di composito vengono posizionati e polimerizzati separatamente (Loguercio et al., 2019). Tuttavia, la tecnica di riempimento incrementale provoca problemi come la formazione di vuoti tra gli strati e prolunga il tempo necessario per realizzare il restauro (El-Safty et al., 2012). Per ovviare a questi limiti, è stata recentemente introdotta una nuova generazione di composito con un nuovo contenuto di monomeri e proprietà di indurimento migliorate, noti come "Bulk-fill composites" (BFC) (Leprince et al., 2013). I nuovi BFC grazie alle loro superiori caratteristiche fisiche e chimiche, consentono il posizionamento e la modellazione del composito in un singolo strato fino alla superficie occlusale (Monterubbianesi et al., 2016). Infatti, può essere polimerizzato in uno spessore

massimo di 4 mm con una contrazione limitata, consentendo così al clinico di riempire la cavità in un unico passaggio con un adattamento della cavità soddisfacente, semplificando la procedura e riducendo il tempo di seduta necessario per completare il restauro (Rosatto et al., 2015). Nonostante l'evidenza clinica e scientifica delle proprietà vantaggiose dei BFC, sono necessarie ulteriori indagini sulle loro prestazioni meccaniche e cliniche, in particolare per quanto riguarda la PSS e l'adattamento interno.

La misurazione del restringimento in una cavità è tecnicamente impegnativa; tuttavia, in letteratura sono stati descritti diversi metodi *in vitro* per analizzare l'effetto del PSS (Raskin et al., 2003; Kakaboura et al., 2007). Il metodo più frequentemente utilizzato per esaminare l'adattamento interno, che valuta l'interfaccia tra il composito di resina e il substrato dentale, è l'infiltrazione mediante la tintura di fucsina, blu di metilene, eritrosina, nitrato d'argento o marcatori radioattivi (García Marí et al., 2019). Tuttavia, utilizzando questa tecnica, i campioni devono essere sezionati, il che limita l'ulteriore utilizzo del materiale e può portare a una perdita di interfacce (Sun et al., 2009). Altri metodi di analisi includono strumenti ottici (García et al., 2014), sistema di rilevamento a fibre ottiche (Mucci et al., 2009), dilatometro a mercurio e video imaging (Arrais et al., 2013). L'adattamento interno può anche essere valutato tramite la scansione al microscopio elettronico (SEM), a seguito del sezionamento del campione. Questo metodo è molto sensibile, ma presenta dei limiti riguardo la valutazione quantitativa, poiché si basa sulla valutazione visiva dell'operatore e non rappresenta l'intero volume del gap, essendo una scansione bidimensionale (2D).

Per ovviare a questi inconvenienti, la microtomografia a raggi X (μ -CT) è stata recentemente introdotta per valutare sia la PSS che l'adattamento interno del composito (Kim and Park, 2014; Algamaiah et al., 2017; Ersen et al., 2019). La μ -CT è simile alla tomografia computerizzata convenzionale solitamente utilizzata nella diagnosi medica e nella ricerca

applicata industriale. In effetti, i dati μ -CT possono essere ricostruiti in tre dimensioni (3D) per ottenere, in modo non invasivo e non distruttivo, informazioni di valore qualitativo e quantitativo fornendo informazioni accurate riguardo PSS, adattamento marginale e distribuzione della microporosità all'interfaccia tra parete della cavità e restauro composito (Sun et al., 2009; Ersen et al., 2019).

Pertanto, la μ -CT può essere considerata un metodo accurato per valutare ulteriormente i BFC, testando nuove tecniche di riempimento e preparazioni di cavità nel tentativo di superare i limiti legati alla realizzazione del restauro in composito, evitando PSS e formazione di gap marginale.

L'obiettivo di questa Tesi di Laurea Sperimentale è di valutare e quantificare la formazione di gap marginale, bolle d'aria e microleakages tra la cavità dentale e il materiale composito adoperato per il restauro, confrontando due tecniche di riempimento "bulk-fill", una con la ricostruzione della parete interprossimale e l'altra senza parete, mediante l'utilizzo della μ -CT e del SEM.

Per comprendere lo stato attuale delle diverse problematiche legate alla realizzazione di un restauro, è necessario introdurre i principi legati al materiale composito e alle diverse tecniche di riempimento della cavità.

1.I COMPOSITI IN ODONTOIATRIA

Si definisce “composito” un materiale costituito dalla combinazione tridimensionale di più materiali di differente natura chimica, al fine di ottenere un materiale con proprietà meccaniche superiori rispetto ai singoli materiali che lo compongono.

Le resine composite in Odontoiatria sono utilizzate per svariati impieghi e il loro utilizzo non si limita ai materiali da restauro, ma comprende liner, sigillanti di solchi, materiali per ricostruzioni di monconi, inlay, onlay, corone, restauri provvisori, cementi per protesi e dispositivi ortodontici, cementi e perni endodontici. (Spoto, 2013)

I compositi da restauro si sono ampiamente evoluti da quando sono stati introdotti negli anni '60, concentrando gran parte del loro sviluppo sulla tecnologia del riempimento, portando a miglioramenti principalmente nelle proprietà meccaniche e in particolare su resistenza all'usura. (Ferracane, 2011)

1.1 COMPOSIZIONE

Sebbene i compositi odontoiatrici presentino formulazioni diverse a seconda dell'uso a cui sono destinati si possono riconoscere delle componenti comuni quali (Spoto, 2013):

1. Matrice polimerica
2. Modulatori di polimerizzazione
3. Riempitivo
4. Agenti accoppianti

1.1.1 Matrice polimerica

La *matrice polimerica* rappresenta circa il 40-50% del volume della massa composito (Craig, 1981). Nel 1957 Bowen facendo reagire una molecola di Bisfenolo A e due di Glicidil-metacrilato (GMA) ottenne la sintesi di un monomero dimetacrilato liquido, viscoso e non volatile; fu denominato Bis-GMA (bisfenol-glicidil metacrilato), visibile in Figura 1 (Anderlini, 1993).

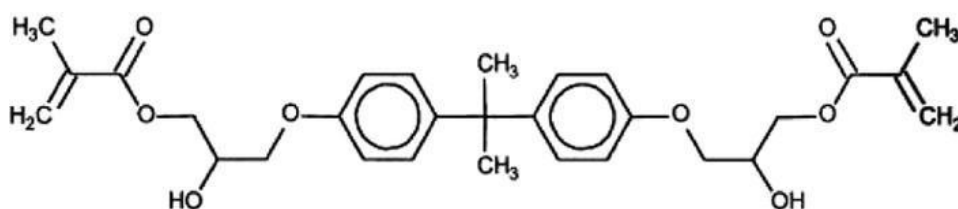


Figura 1 Struttura molecolare del Bis-GMA

Ad oggi le resine più utilizzate sono il BIS-GMA e l'UDMA (uretano dimetacrilato). Essendo il BIS-GMA un monomero liquido altamente viscoso a causa delle interazioni di legami idrogeno, risulta poco lavorabile a temperatura ambiente, perciò deve essere diluito con una resina più fluida al fine di risultare utilizzabile per i compositi dentali (Negri et al., 1992). Il BIS-GMA viene quindi diluito con una varietà di altri monomeri a basso peso molecolare, definiti regolatori di viscosità (Anderlini, 1993):

- BIS-MA: dimetacrilato di bisfenolo A
- TEGDMA: trietilen-glicol dimetacrilato
- EGDMA: etilen-glicol dimetacrilato
- MMA: metilmetacrilato

La formulazione più comune contiene BIS-GMA e TEGDMA in varie proporzioni (Anderlini, 1993).

1.1.2 Modulatori della polimerizzazione

La polimerizzazione di un materiale composito è il risultato di una reazione chimica (reticolazione) tra i monomeri dimetacrilati che produce un polimero rigido e fortemente reticolato che circonda le particelle di riempitivo inerti (Spoto, 2013). La reazione viene innescata da radicali liberi che reagiscono con il monomero (Anderlini, 1993). I *modulatori della polimerizzazione* sono catalizzatori (che quindi promuovono la reazione) e inibitori (che quindi la contrastano).

In base alla modalità di attivazione di tali molecole si distinguono:

- *Resine autopolimerizzanti*: da stimolo chimico o calore
- *Resine fotopolimerizzanti*: da sorgente luminosa

Le resine *autopolimerizzanti* vengono confezionate in due parti distinte; una delle parti contiene l'iniziatore (come per esempio il perossido di benzoile) e l'altra contiene l'acceleratore (solitamente una ammina terziaria). A seguito della miscelazione di queste due componenti, ha inizio la formazione di radicali liberi (Anderlini, 1993) e quindi ha inizio la polimerizzazione.

I compositi autopolimerizzanti sono relativamente facili da usare e non richiedono ulteriori strumenti di polimerizzazione. È stato dimostrato come questi materiali presentino miglior adattamento e minore infiltrazione marginale (Kinomoto et al., 1999).

Le resine *fotopolimerizzanti* vengono confezionate in una unica pasta in quanto l'iniziatore è già presente all'interno della resina; l'iniziatore è fotochimico, ciò vuol dire che inizia a produrre radicali liberi quando viene stimolato da determinate lunghezze d'onda. Il

fotoiniziatore più utilizzato è il Canforochinone (CQ) che viene attivato da una lunghezza d'onda compresa tra i 400 e i 490 nm, con picco di assorbimento intorno ai 470 nm (luce blu) (Cattaruzza and Spizzo, 2012).

Numerosi fotoiniziatori sono stati considerati come alternative al CQ nei compositi dentali, sia per migliorare l'estetica riducendo il colore giallognolo che il CQ conferisce alla resina sia per migliorare significativamente l'efficienza della polimerizzazione. Tra i nuovi fotoiniziatori ricordiamo il Fenilpropanedione (PPD), l'ossido di Monoacilfosfina (MAPO), l'ossido di Bisacilfosfina (BAPO) e il Benzoil-trimetil-germano (BTG). Alcuni di questi sono già ritrovabili nei compositi in commercio (Leprince et al., 2013).

I compositi fotopolimerizzabili presentano i seguenti vantaggi: tempo di lavoro più lungo, breve tempo di polimerizzazione, lunga durata di stoccaggio, bassissima probabilità di inglobare bolle d'aria (in quanto confezionati in pasta singola e quindi non necessitano di mescolamenti) (Kinomoto et al., 1999).

Durante le fasi di modellazione e compattazione il composito risulta esposto all'aria; la presenza di ossigeno durante la polimerizzazione determina la formazione di uno strato di inibizione ossidativa (OIL) a livello dell'ultimo strato (Shawkat et al., 2009). È stato mostrato come lo spessore dell'OIL si aggiri intorno ai 15 micron. Ciò vuol dire che l'ultimo strato di composito presenta 15 micron di monomeri non polimerizzati i quali consentono l'applicazione di più strati sottili di materiale (tecnica della stratificazione) che permette il controllo dello stress da contrazione.

Gli inibitori alla polimerizzazione sono delle sostanze necessarie a prevenire la polimerizzazione spontanea o accidentale del composito. Se un radicale libero viene formato, per esempio, dall'esposizione alla luce ambientale del composito, gli inibitori reagiscono con il radicale libero più velocemente di quanto possa farlo il radicale con il monomero. Solo

quando l'inibitore si consuma inizia la reazione a catena dei monomeri. Un inibitore classico è l'idrossitoluene butilato (BHT). La concentrazione dell'inibitore nel composito è di circa 0.01 wt%. (Anusavice et al., 2012)

1.1.3 Riempitivo

Il *riempitivo* (o “filler” in inglese) è rappresentato da varie sostanze, solitamente sottoforma di particelle, aggiunte alla matrice per ovviare alle carenze di resistenza (Anderlini, 1993). Le particelle solide di riempitivo sono disperse nella matrice della resina con funzione di rinforzo. Le prime particelle di riempitivo erano realizzate in quarzo; erano forti, dure e chimicamente stabili. Oggigiorno i riempitivi sono fatti principalmente di materiali vetrosi o materiali ceramici; altri possono essere derivati da minerali naturali. I filler sono prodotti o dal processo di macinazione, che comporta il passaggio da particelle più grandi a più fini, o dalla tecnica di precipitazione sol-gel, che trasforma i filler da molecole a particelle. Il vetro ha le stesse ottime proprietà del quarzo, in più le caratteristiche ottiche sono migliorate.

Generalmente, i filler possono migliorare diverse proprietà del materiale come maggiore rigidità, resistenza all'abrasione, durezza e modulo elastico, ridotto cambiamento dimensionale, polimerizzazione da contrazione, regolazione della contrazione, assorbimento di acqua ed espansione termica, estetica, gloss, radiopacità e caratteristiche di manipolazione.

Di solito, le proprietà fisiche e meccaniche del composito sono migliorate in relazione diretta alla quantità di riempitivo aggiunto, noto come “carico di riempitivo”. All'aumentare del contenuto del riempitivo, la quantità di matrice resinosa si riduce, con una conseguente diminuzione anche della contrazione da polimerizzazione. Inoltre, le dimensioni, la forma e la distribuzione delle particelle di filler svolgono un ruolo importante nella classificazione e nelle proprietà del composito.

Inizialmente il filler era costituito da particelle di quarzo; attualmente i riempitivi più utilizzati sono composti a base di silice, litio, boro e itterbio. Il principale materiale di riempimento per i compositi dentali è la silice e/o il silicato, come il diossido di silicio (SiO_2) (Marghalani, 2016).

1.1.4 Agenti accoppianti

Le qualità fisico-meccaniche dei compositi si realizzano in buona parte per il trasferimento degli stress dalla matrice polimerica alla fase dispersa di elevata resistenza, il riempitivo. Quando il composito è sollecitato, la fase organica più duttile trasmette le tensioni al riempitivo che, essendo rigido si oppone alle deformazioni. Questa proprietà si manifesta efficacemente se esiste un buon legame tra matrice e riempitivo (Anderlini, 1993).

Possiamo ottenere due tipi di legame tra fase resinosa e dispersa: un legame di tipo micromeccanico e un legame di tipo chimico.

Il legame micro-meccanico si realizza creando microporosità sulla superficie delle particelle oppure sintetizzandole. Il monomero fluisce all'interno delle irregolarità delle particelle ed in seguito alla polimerizzazione, le particelle vengono inglobate e legate meccanicamente alla matrice (Anderlini, 1993).

Il legame chimico è il più comune; l'unione tra le due fasi si viene a creare mediante la ricopertura delle particelle del filler con un agente accoppiante che ha caratteristiche di affinità sia con il filler sia con la matrice resinosa. Il silano è l'agente accoppiante solitamente utilizzato per compositi dentali. È una molecola caratterizzata dai gruppi silanolo (Si-OH) ad una estremità e gruppi di metacrilato all'altra estremità. Queste molecole formano legami covalenti sia con i gruppi Si-O dei riempitivi a base di silice sia con i gruppi metacrilati della matrice resinosa (Spoto, 2013).

1.2 CLASSIFICAZIONE

Le resine composite possono essere distinte in base della dimensione delle particelle di filler:

- *Macroriempiti*: compositi con particelle sferiche amorfe di 1-50 μm , che conferivano al composito una buona resistenza all'usura, ma con uno scarso risultato estetico perché difficilmente lucidabili.
- *Microriempiti*: compositi contenenti particelle rotondeggianti di circa 40 nm, con una bassa percentuale di filler amorfo e di conseguenza avevano una bassa resistenza all'usura.
- *Ibridi*: compositi con caratteristiche intermedie tra i macro e micro riempiti e favorevoli proprietà meccaniche e proprietà ottiche (Lutz and Phillips, 1983).
- *Nanoriempiti*: compositi contenenti unicamente particelle di scala nanometrica come silice e/o particelle di zirconia (5-20 nm) in corpuscoli distinti/non-aggregati e particelle fuse/agglomerate (dimensione media di 0.6-1 micron).
- *Nanoibridi*: compositi ibridi di ultima generazione che contengono nanoparticelle di riempitivo prepolimerizzato e nanoclusters.

Nel 2017, Randolph e coll., nel voler proporre un innovativo sistema di classificazione, compiono una ricapitolazione riguardo alle resine composite e i riempitivi come mostrato nelle figure seguenti. (Figure 2.a-h)

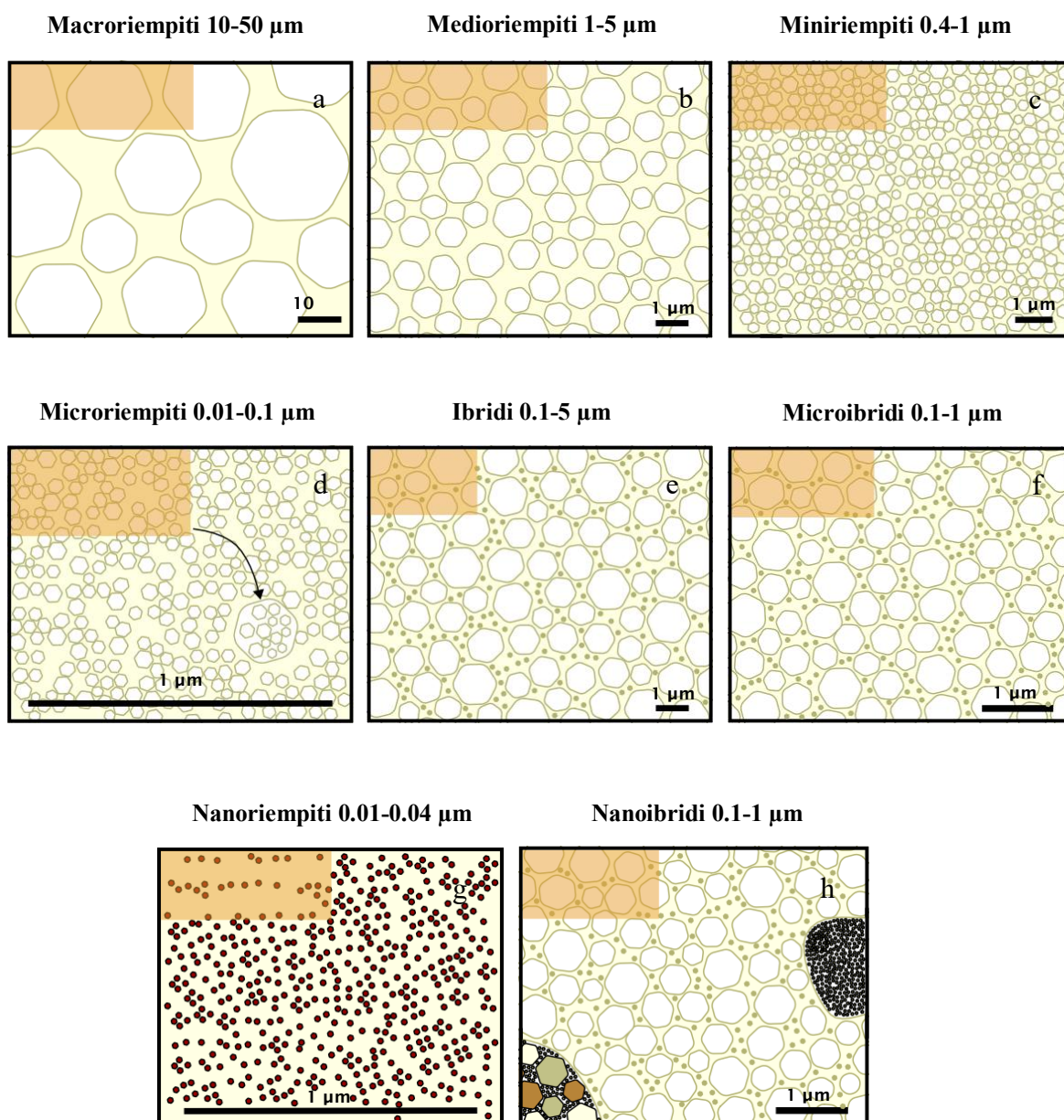


Figura 2 a-h: Classificazione dei compositi in base alle dimensioni del riempitivo

I compositi possono essere inoltre classificati, in base alla loro consistenza in:

- *Universali*: compositi ideati per la modellazione sia di restauri anteriori che posteriori.
- *Flowable*: compositi fluidi a bassa viscosità con conseguente riduzione delle proprietà meccaniche, per questo motivo il loro utilizzo si limita ai fondi cavitari per le parti più profonde delle cavità, piccoli restauri, aree “load-free” (in assenza di carico masticatorio, es. V classe), o per riparazione di restauri (Attar et al., 2003).
- *Packable*: compositi compattabili con grande resistenza meccanica dovuta a modificazioni nella distribuzione delle dimensioni dei filler o all'aggiunta di altri tipi di riempitivo, come fibre. Per le loro proprietà sono particolarmente adatti ai restauri nei settori posteriori, sottoposti a carico occlusale (Spoto, 2013).

1.3 PROPRIETÀ

I restauri compositi sono costantemente sottoposti a forze provenienti da masticazione, bruxismo o serramento e la presenza di saliva e attacchi acidi possono minare la longevità della ricostruzione.

Tale carico ciclico può portare alla propagazione crack subcritici sia nei tessuti dentali (Arola et al., 2010) che nei materiali di restauro (Kruzic et al., 2018), e alla fine causano fratture da fatica dei denti e/o restauri.

Pertanto le proprietà meccaniche dei materiali compositi di maggiore interesse risultano essere:

- *Fatica*: è considerata la proprietà più importante per i materiali dentali esposti a periodi di carico ciclico durante la masticazione del cibo. È probabile che fratture o rotture si verifichino nel tempo a causa dell'accumulo di danni prodotti da forze cicliche che non superano la resistenza alla frattura. L'affaticamento è un fenomeno complesso. È probabile che le crepe si propaghino da difetti esistenti a causa dell'estensione del crack e della formazione di altri danni localizzati, fino a quando il materiale non può più supportare le condizioni di carico. È più probabile che l'affaticamento sia iniziato da siti soggetti a concentrazioni elevate di stress, come spigoli vivi, scanalature, difetti superficiali e interni e altre imperfezioni.
- *Usura (wear)*: si verifica quando vi è un distacco di grandi porzioni di tessuto duro dentale o materiale da restauro per effetto di una azione meccanica; si manifesta con diversi meccanismi. Quando i denti entrano in contatto senza un bolo alimentare o qualsiasi altro intermediario, questo si chiama usura a due corpi o attrito (*attrition wear*). Quando una persona mastica gli alimenti o si lava i denti con uno spazzolino da

denti e dentifricio, si ottengono risultati di usura a tre corpi o abrasiva (*abrasive wear*). Le superfici dei denti buccali e linguali sono principalmente esposte a procedure di igiene orale meccanica che causano usura abrasiva, mentre le superfici occlusali sono soggette sia all'attrito sia all'usura abrasiva, che si verificano quasi simultaneamente o in breve episodi successivi. Un altro fenomeno è descritto come usura da adesione (*adhesion wear*). L'usura da fatica (*fatigue wear*) si manifesta quando gran parte dei tessuti duri dentali o del materiale da restauro si scheggia. Se questo si verifica sulla parte cervicale del dente, viene utilizzato il termine "abfraction" (Ilie et al., 2017).

Tuttavia, un'ulteriore preoccupazione correlata alla fatica per i restauri compositi è il fallimento del margine e la propagazione del gap a causa del carico ciclico sovrapposto alle sollecitazioni interfacciali causate dal restringimento della polimerizzazione della resina durante l'indurimento (Kruzic et al., 2018). La presenza di lacune marginali può consentire formazione di carie secondarie (Khvostenko et al., 2016), che è ritenuto essere la principale causa di sostituzione del restauro composito.

1.4 FATTORI CHE INFLUENZANO IL SUCCESSO DEL RESTAURO

Nonostante negli ultimi decenni le resine composite abbiano subito una notevole evoluzione, continuano a presentare dei limiti come la resistenza alla frattura, la riduzione volumetrica e lo sviluppo di stress da polimerizzazione a livello dell'interfaccia tra dente e restauro (Cidreira Boaro et al., 2019). Durante la reazione di polimerizzazione dei materiali compositi, la formazione della rete polimerica è accompagnata dalla formazione di legami covalenti tra i monomeri di resina che prima erano legati con forze deboli (forze di van der Waals). I legami covalenti comportano l'avvicinamento delle molecole e conseguentemente un restringimento volumetrico di range variabile (1.5-5%). Clinicamente, questa variazione dimensionale è impedita dal legame del materiale alle pareti della cavità e, di conseguenza, il restringimento si manifesta come stress (Tauböck et al., 2014).

Lo stress da polimerizzazione riduce la forza del legame adesivo, con conseguenze cliniche negative come sensibilità post-operatoria, cracks nello smalto, e formazione di gap marginale con sviluppo di carie secondaria.

L'entità della *PSS* (*polymerization shrinkage stress*) dipende dai diversi fattori:

- Tipo, dimensione e concentrazione dei *monomeri* (Goncalves et al, 2010 a; He et al, 2018) e del *riempitivo* (Goncalves et al, 2010 b).
- *Modulo di elasticità (E)*: rappresenta la rigidità relativa del materiale nell'ambito del campo elastico. Le qualità elastiche sono di fondamentale importanza per un materiale e sono determinate dalle forze intermolecolari. Più forte è l'attrazione tra le molecole e maggiore è il valore E. I materiali con basso valore di elasticità si deformano maggiormente se sottoposte a forze occlusali; queste deformazioni oltre alle

ripercussioni negative sul restauro e sulle strutture dentali possono aumentare il rischio di infiltrazione (Anderlini, 1993).

Il modulo di elasticità si calcola con la seguente formula:

$$E = \frac{\text{Forza (Stress)}}{\text{Deformazione}}$$

Figura 3: Formula del modulo elastico.

- *C-factor*: fattore di configurazione cavitaria noto come il rapporto tra superfici adese e superfici libere del restauro composito. Cavità con un C-factor alto presentano un aumento dello stress da polimerizzazione, e di conseguenza, una riduzione della forza di adesione, che potrebbe avere un effetto deleterio sull'integrità marginale e formazione di gap (El Damanhoury et al., 2014). Clinicamente è comune confrontarsi con le preparazioni cavitare complesse, in cui i valori di C-factor sono spesso elevati. In tali condizioni l'operatore deve adottare strategie adeguate per contrastare e minimizzare le forze di contrazione da polimerizzazione, sfruttando al massimo i legami prodotti dai sistemi adesivi (Cerutti et al., 2007). Minore è il C-factor minori saranno gli stress da contrazione.
- *Grado di Conversione (DC)*: rappresenta la percentuale di doppi legami che hanno reagito, e misura l'estensione della polimerizzazione. Al termine della reazione di polimerizzazione dei materiali a base di metacrilati, si può notare un'incompleta conversione dei doppi legami, dipendente dalla percentuale di monomero e di filler, dal sistema iniziatore e dalla procedura di fotopolimerizzazione (Peutzfeldt et al.,

2004). Fino ad ora studi scientifici non hanno permesso di definire il grado di conversione ideale. Da alcuni studi si evince che il grado di conversione minimo che un composito deve avere per sopportare i carichi occlusali per raggiungere caratteristiche fisico-meccaniche sufficienti deve essere pari o superiore almeno al 55% (Abed et al., 2015; Santini et al., 2013). Un aumento del grado di conversione, crea inevitabilmente un aumento della contrazione da polimerizzazione, in quanto i monomeri polimerizzando occupano uno spazio inferiore rispetto a quando erano molecole libere nello stato fluido.

Al fine di limitare gli stress indotti dal processo di polimerizzazione, sono state introdotte diverse tecniche di riempimento incrementale, su cui approfondiremo nel capitolo successivo.

2. TECNICHE DI RIEMPIMENTO

Le tecniche di apposizione del composito all'interno delle cavità sono considerate un importante fattore di modificazione dello stress da contrazione (Chandrasekhar et al., 2017).

Al fine di limitare gli effetti negativi indotti dalla polimerizzazione, quali contrazione volumetrica del materiale, stress da contrazione, microcracks (nella struttura dentale o nel materiale in resina), debonding e carie secondaria, è stata inizialmente introdotta la *tecnica di riempimento incrementale* (Ilie et al., 2007; Ilie and Hickel, 2011; Tantbirojn et al., 2011; El-Safty et al., 2012; Van Ende et al., 2012; Czasch and Ilie, 2013). Questa tecnica prevede il posizionamento di incrementi successivi con uno spessore di 2 mm o meno, polimerizzati singolarmente per massimizzare la polimerizzazione di ciascuno strato, con una migliore attenuazione della luce, maggiore adattamento del composito alle pareti della cavità (El Damanhoury et al., 2014), e una corretta conversione da monomero a polimero nella parte inferiore dell'incremento (García Mari et al., 2019). Questa tecnica è stata a lungo accettata dalla comunità scientifica come tecnica standard per le ricostruzioni in composito.

Tuttavia, questa procedura potrebbe portare alla formazione di vuoti, nessun legame tra gli strati, difficoltà di posizionamento dei compositi, specialmente in cavità profonde nelle aree posteriori, con un'estensione dei tempi di lavoro alla poltrona. (Abbas et al., 2003, Sarrett, 2005)

Nel tentativo di semplificare questa tecnica di stratificazione incrementale e per abbreviare i tempi alla poltrona, è stata introdotta una nuova generazione di resine composite nanoibride, nota come "*bulk-fill composite*" (BFC) (García Mari et al., 2019).

Queste resine innovative presentano un miglioramento della traslucenza che permette un grado di conversione (DC) ottimale anche nella parte inferiore della cavità dove è più difficile raggiungere l'alta DC (es. box prossimale delle II Classi). Inoltre, sono costituite da monomeri e riempitivi chimici di nuova generazione che presentano cluster di particelle sferiche libere di dimensioni nanometriche, che migliorano le proprietà meccaniche.

Il grande vantaggio di questi materiali è la possibilità di essere adoperati con la *tecnica bulk-filling*, ovvero con un unico incremento di materiale che può arrivare a 4-5 mm, senza ricorrere all'apposizione di più strati di composito come nella tecnica tradizionale, non compromettendo l'efficienza della polimerizzazione.

La maggiore profondità di polimerizzazione nei BFC è permessa dalla loro minore contrazione post-gel e dall'elevata reattività alla polimerizzazione leggera a seguito di una migliore penetrazione della luce (Leprince et al., 2013).

È stato dimostrato che, rispetto ad un composito convenzionale, la cinetica di stress di contrazione, le proprietà meccaniche e i sistemi di iniziazione migliorati dei compositi bulk, hanno portato ad una riduzione significativa dello stress da contrazione. Per tale motivo, l'uso di questi materiali bulk viene particolarmente indicato per il riempimento di cavità profonde e con C-factor elevato nei settori posteriori (El Damanhoury et al., 2014).

Il BFC può essere classificato in base alla sua consistenza in:

- *Bassa viscosità ("low viscosity")*: compositi bulk di prima generazione, noti anche come *bulk flow*. Si adattano facilmente alle irregolarità di superficie presenti sul pavimento della cavità, al fine di ottenere una cavità standardizzata. Questa tipologia di compositi bulk-fill presenta scarse proprietà meccaniche, per cui si rende necessaria

la ricopertura o “eapping oclusale” con uno strato variabile di composito tradizionale altamente caricato in riempitivo al fine di resistere alle forze cicliche masticatorie.

- *Alta viscosità (“high viscosity”)*: compositi bulk di seconda generazione, che permettono di riempire la cavità con un unico passaggio fino alla superficie oclusale, con un singolo incremento di massa, senza necessità di “eapping” (Van Ende et al., 2017).

I compositi bulk-fill hanno ottenuto grande successo tra i clinici, in particolare per la loro applicazione semplificata nei restauri posteriori (Leprince, 2013). Nonostante le evidenti prove cliniche e scientifiche delle vantaggiose caratteristiche di questi materiali (Hayashy et al, 2019) sono necessarie ulteriori indagini sulle loro prestazioni meccaniche e cliniche, in particolare per quanto riguarda contrazione e lo stress da polimerizzazione e l' adattamento interno.

Il metodo più frequentemente utilizzato per esaminare l'adattamento interno, che valuta l' interfaccia tra il materiale composito e il substrato dentale, è la penetrazione del colorante utilizzando marcatori di fucsina di base, blu di metilene, eritrosina, nitrato d'argento o agenti radioattivi (Garcia Mari et al., 2019). Tuttavia, nell'utilizzare questa tecnica, i campioni devono essere sezionati, il che può portare a una falsata analisi dell' interfaccia interessata. Altri metodi includono strumenti ottici (Garcia et al., 2014), sistema di rilevamento a fibra ottica (Mucci et al., 2009), dilatometro a mercurio, bilanciamento elettromagnetico e video imaging (Arrais et al., 2013).

L' adattamento interno può anche essere valutato con microscopia elettronica a scansione dopo il sezionamento. Questo metodo è molto sensibile, ma presenta limiti relativi alla

valutazione quantitativa, che si basa sulla valutazione visiva dell'operatore e non rappresenta, essendo bi-dimensionale (2D), l'intero volume del gap.

Per ovviare a questi inconvenienti, la microtomografia a raggi X (μ -CT) è stata recentemente introdotta per valutare la contrazione e lo stress da polimerizzazione e l'adattamento interno del composito di resina (Kim et al, 2014).

Nel capitolo successivo approfondiremo il funzionamento e l'uso della microtomografia a raggi X (μ -CT), per lo studio dei nuovi materiali compositi dentali.

3.USO DELLA MICROTOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA (μ -CT)

I progressi raggiunti nella tecnologia del tubo a raggi X, nella realizzazione di rilevatori e nella potenza computazionale dell'hardware moderno, hanno permesso una vasta applicazione della Tomografia Computerizzata a raggi X (CT) nella ricerca biomedica, per studi morfologici e funzionali di elementi dentari, biomateriali e vari tessuti umani (Giuliani and Cedola, 2018). Il sistema di tomografia a raggi X ci consente, in maniera non distruttiva, di visualizzare e misurare strutture interne di oggetti tridimensionali senza preparazione del campione o fissazione chimica, evitando così perdita di informazioni.

3.1. PRINCIPI DI BASE

Durante una scansione tomografica l'oggetto viene colpito dai raggi X. I raggi, dopo aver attraversato l'oggetto, vengono raccolti da un rilevatore (*vedi Fig.3*). Vengono eseguite proiezioni bidimensionali in serie, di solito ad un incremento angolare fisso. Dalla totalità delle proiezioni raccolte, vengono ricostruite le "slices" tomografiche, ovvero le immagini della struttura interna dell'oggetto in piani paralleli alla direzione di propagazione dei raggi X. L'impilamento delle slices tomografiche consente la ricostruzione 3D del campione in esame

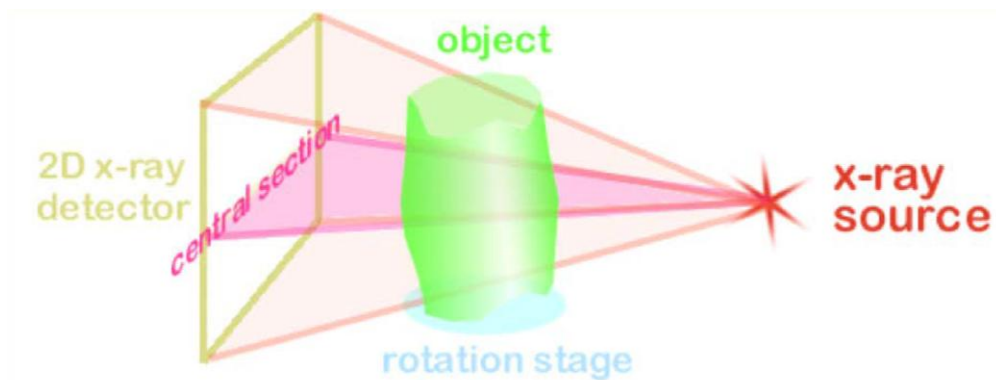


Figura 4: Rappresentazione grafica del principio di funzionamento della tomografia.

La μ -CT è simile alla tomografia computerizzata convenzionale di solito impiegata nella diagnosi medica e nella ricerca applicata industriale. Tuttavia, a differenza di questi sistemi, che generalmente hanno una risoluzione spaziale massima di circa 0,5 mm, la μ -CT è in grado di raggiungere una risoluzione spaziale fino a 0,3 μ m, ovvero circa tre ordini di grandezza più alti. (Rominu et al., 2014)

Il principio su cui si basa la formazione dell'immagine può essere dovuto all'assorbimento dei fotoni da parte del campione oppure al contrasto di fase nel passaggio di questi attraverso i diversi tessuti. Nell'imaging a raggi X convenzionale, la formazione dell'immagine si basa sulle differenze nell'assorbimento dei raggi X da parte dei diversi tessuti, ovvero le strutture dense come le ossa assorbono più dei tessuti molli; pertanto la μ -CT si basa sulla mappatura del coefficiente di attenuazione lineare dei raggi X che attraversano il campione esaminato e l'attenuazione dipende dalla composizione e densità dell'oggetto.

Grazie alla capacità di penetrazione dei raggi X, la μ -CT consente l'acquisizione non distruttiva di informazioni fondamentali sul restauro dentale, indipendentemente dalla forma o dalle dimensioni del campione, analizzando il comportamento del materiale in una data configurazione geometrica, come la cavità dentale. Le immagini 3D di μ -CT ad alta

risoluzione spaziale, rendono possibile la visualizzazione anche di piccoli dettagli della struttura.

La tecnica della μ -CT si è dimostrata molto efficace per consentire non solo la visualizzazione, ma anche l'analisi quantitativa di bolle e microleakages, ottenendo informazioni sulla contrazione da polimerizzazione e adattamento marginale.

In questo studio, approfondiremo il suo utilizzo come strumento di valutazione della distribuzione della microporosità interne all'interfaccia tra le pareti della cavità e il restauro, ottenuto con diverse tecniche di riempimento con materiali compositi bulk-fill.

4.USO DEL MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM)

In Odontoiatria, esistono diversi approcci per esaminare direttamente integrità dell'interfaccia dente-adesivo-composito. Tradizionalmente queste interfacce vengono visualizzate mediante osservazioni di sezionamento ad alto ingrandimento rese possibili dalla microscopia elettronica a scansione. Questo studio permette di valutare qualitativamente la morfologia di superficie.

4.1. PRINCIPI DI BASE

A differenza del microscopio ottico, che si basa un fascio di luce per la visualizzazione dell'oggetto, il microscopio elettronico sfrutta un fascio di elettroni che attraversa il corpo. La risoluzione di uno strumento di imaging dipende principalmente dalla lunghezza d'onda della particella utilizzata come sonda. Grazie alla lunghezza d'onda degli elettroni, di molto inferiore rispetto a quella dei fotoni, il potere di risoluzione del microscopio elettronico è nettamente superiore rispetto a quella del microscopio ottico, di circa 1000 volte. Inoltre anche la profondità di campo di un microscopio elettronico a scansione (SEM) è molto più elevata, consentendo immagini perfette anche per campioni con spessore elevato.

La sorgente di elettroni di un SEM può essere un filamento di tungsteno, oppure nei SEM da banco più sensibili e performanti un filamento di Esaboruro di Lantanio o di Cerio. Il campione viene mantenuto sottovuoto per evitare che l'aria disturbi la creazione del fascio di elettroni. Il campione deve essere conduttivo, altrimenti

produrrebbe cariche elettrostatiche che disturberebbero la rilevazione del segnale. Nel caso di campioni non conduttivi, come gli elementi dentari per il nostro studio, essi possono essere ricoperti da particelle metalliche (Sputter Coater) con degli strumenti specifici.

Nel SEM, il campione viene sottoposto ad una scansione riga per riga con il fascio di elettroni su un'area specifica. Il fascio elettronico viene quindi scansionato e trasformato in segnale televisivo; il risultato è quello di una immagine in bianco e nero ad elevata risoluzione e grande profondità di campo (Leonard et al., 2012).

Le immagini ottenute al SEM mostrano una scala di grigi in corrispondenza alla tipologia del materiale analizzato: infatti, la penetrazione del fascio di elettroni varia in funzione al numero atomico dell'elemento, o meglio, è maggiore in materiali più leggeri (immagini più scure) e minore in materiali più pesanti (immagini più chiare).

In questo studio, il SEM viene utilizzato per valutare la forma e la dimensione dei possibili gap presenti sulla superficie, il materiale composito e i tessuti dentari.

5. PARTE SPERIMENTALE

In questo capitolo verrà trattata la parte sperimentale dello studio che ha i seguenti obiettivi:

1. Valutare la formazione di microleakages a livello dell'interfaccia dente-restauro e il gap marginale di superficie nei restauri diretti con compositi bulk-fill in cavità di II classe.
2. Comprendere il comportamento del composito bulk-fill applicato con diverse tecniche di riempimento al fine di valutare se vi è una differenza rilevante tra le due tecniche esaminate.

Questo capitolo è articolato in Materiali e Metodi, Risultati, Discussione a cui seguiranno le Conclusioni che possiamo trarre da questo studio sperimentale.

5.1. MATERIALI E METODI

5.1.1. Preparazione del campione

6 terzi molari sani sono stati estratti per ragioni parodontali o ortodontiche e sono stati inclusi nello studio secondo i seguenti criteri: corona intatta, priva di carie, difetti ipoplastici, di crepe e di restauro. Tutti i depositi di tartaro e il tessuto connettivo rimanente sono stati rimossi mediante scaling (strumentazione manuale e ad ultrasuoni). In ciascun campione sono state preparate due cavità indipendenti MO e DO (rispettivamente occlusomesiale e occlusodistale), per un totale di 12 cavità di II Classe. Le dimensioni complessive delle cavità sono state standardizzate come segue: larghezza buccolinguale di 4 mm, parete assiale a 3 mm dalla superficie del dente mesiale o distale, e l'altezza occluso-gengivale è stata posta da un lato, 1 mm sopra la giunzione amelo-cementizia (CEJ), e dall'altro lato, è stata posizionata 1 mm sotto la CEJ. Per la preparazione è stata utilizzata una fresa diamantata n.206 (Komet® Dental, Lemgo, Germania) su manipolo rosso ad alta velocità sotto abbondante irrigazione. È stata utilizzata una nuova fresa per ogni campione al fine di mantenere l'efficienza di taglio. I denti sono stati conservati prima e dopo la preparazione in una soluzione di Cloramina (NH₂Cl) allo 0.5% w/w a temperatura ambiente, cambiandola ogni due settimane.

5.1.2. Procedura di restauro

Dopo la preparazione della cavità, tutti i campioni sono stati suddivisi casualmente in 2 gruppi (n=3) in base alla tecnica di riempimento:

- Gruppo Bulk&Go (BG): le cavità sono state ricostruite con una tecnica di riempimento *“bulk-fill technique”* con un singolo incremento fino alla superficie occlusale.
- Gruppo Bulk Tradizionale (BT): le cavità sono state ricostruite in due fasi, la prima consiste nel ricostruire la parete prossimale, trasformando la seconda classe in prima, concludendo con la seconda fase realizzando il riempimento della cavità mediante tecnica *bulk-fill technique*.

Quindi, è stata posizionata una matrice metallica circonferenziale *“automatrix”* (Automatrix® MT, Dentsply, Milford, DE, USA), regolata e fissata attorno alla cavità. Per rimuovere i possibili detriti della preparazione, tutte le cavità sono state sciacquate con acqua e asciugate usando un getto d'aria. In seguito è stata realizzata una mordenzatura selettiva dello smalto della cavità con Acido Ortofosforico al 37% (3M™ Scotchbond™ Etching Liquid) per 30 secondi, risciacquato con acqua per 30 sec e delicatamente asciugato con aria. Successivamente è stato applicato su tutta la superficie della cavità un sistema adesivo universale monocomponente (3M™ Scotchbond™ Universal) con microbrush e pennello per 2 volte, seguito da un leggero soffio d'aria (*“air blowing”*) per 20 secondi per distribuire in modo uniforme l'adesivo sulla superficie e favorire l'evaporazione dei solventi contenuti all'interno del sistema adesivo, come consigliato dal produttore. Per la polimerizzazione è stata utilizzata una lampada fotopolimerizzante a LED (Light Emitting Diode) Elipar® (Elipar™ S10, 3M ESPE), per 40 sec (Figura)



Figura 5: Lampada 3M ESPE Elipar™ S10.

Successivamente, è stato realizzato il restauro della cavità secondo la tecnica del gruppo di appartenenza. I campioni sono stati restaurati con lo stesso composito bulk-fill ad alta viscosità, il Filtek™ One Bulk Fill (3M, ESPE, USA) Colore A3. La tabella 1 descrive le caratteristiche delle componenti del materiale utilizzato.

Nome	Produttore	Composizione della matrice	Tipo di Filler	Filler (peso%/volume %)	Colore
Filtek One Bulk Fill Restorative	3M Oral Care	AUDMA, AFM, UDMA,1,12 dodecane-DMA	Silica,zirconia,aggregated zirconia/silica filler,ytterbium trifluoride	76.5/58.4	A3

AFM: addition-fragmentation monomers; AUDMA: aromatic urethane dimethacrylate; UDMA: urethane dimethacrylate. Data were provided by manufacturers.

Tabella 1: Composizione chimica del materiale bulk-fill scelto per lo studio.

Una volta posizionato il materiale, è stato compattato e adattato, rimuovendo gli eccessi, con lo strumento LM-Arte™ Condensa (LM-Instruments Oy, Parainen, Finland). Infine, è stato

polimerizzato per 40 sec con lampada fotopolimerizzante Elipar. Terminato il restauro, sono state eseguite le procedure di rifinitura con dischi abrasivi (Sof.Lex™ Discs Coarse e Medium, 3M ESPE, USA) e lucidatura con gommini (Opti1Step™, Kerr Dental, California) con irrigazione ad alta velocità, e spazzolini a coppetta (Hawe Occlubrush™ Regular, Kerr Dental, California) a secco a bassa velocità.

I campioni finalizzati sono stati sottoposti all'analisi μ -CT e successivamente sottoposti a doratura per la valutazione morfologica al SEM.

5.1.3. Analisi μ -CT

L'analisi 3D della formazione del microleakage di ogni campione è stata eseguita con sistema di microtomografia Bruker-SkyScan 1174 (Skyscan, Kartuizersweg, Kontich, Anversa, Belgio), installato presso i Laboratori del Centro di Ricerca e Servizio di Microscopia delle Nanostrutture (CISMiN) dell'Università Politecnica delle Marche.



Figure 6, 7 a-c: Microtomografia BrukerSkyscan1174: a) sorgente di raggi X con micro focus; b) alloggiamento del campione; c) camera CCD.

La sorgente di raggi X è stata impostata con un voltaggio di 50 kV e 800 μ A di corrente; di fronte alla sorgente è stato applicato un filtro in alluminio da 1 mm. Il filtro assorbe raggi X al di sotto di un certo livello di energia, aumentando così l'energia media del fascio di raggi X. Di conseguenza l'applicazione di un filtro spesso è utile al fine di aumentare la trasmissione attraverso il campione e ridurre gli artefatti causati dall'indurimento del fascio.

I campioni sono stati scansati utilizzando una dimensione di pixel di 9,5 μ m, con step angolari di 0.2° su 360° di rotazione del campione, con un tempo di esposizione di 10 s per proiezione. Ciò significa che il tempo di scansione è stato di 5 h per tutti i campioni.



Figura 8: Campione posizionato sul supporto interno della μ -CT.

Per ricostruire le immagini di sezioni trasversali, a partire da immagini di proiezione tomografiche è stato utilizzato il software NRecon (versione 1.6.10.2, Skyscan, Kontich). Sono stati impostati i seguenti parametri di settaggio:

- *Misalignment compensation*: valore variabile in base al campione, necessario per trovare la giusta corrispondenza tra il centro di rotazione e il centro dell'oggetto, quindi per compensare il possibile disallineamento durante l'acquisizione. Una compensazione errata dell'allineamento potrebbe causare artefatti come la sfocatura nell'immagine ricostruita.
- *Smoothing*: viene applicato alla proiezione per la resa uniforme del profilo. Questo parametro è stato fissato a 6.0 nel nostro studio.
- *Beam-hardening correction*: correzione per compensare l'effetto di indurimento del fascio mediante trasformazione lineare nel software. La profondità della correzione (0,

1, ..., 100) può essere selezionata in base alla densità dell'oggetto. Questo parametro è stato fissato al 70% nel nostro studio.

- *Ring Artifact Reduction*: valore che permette una riduzione degli artefatti ad anello. Questo parametro è stato fissato a 8.0 nel nostro studio.

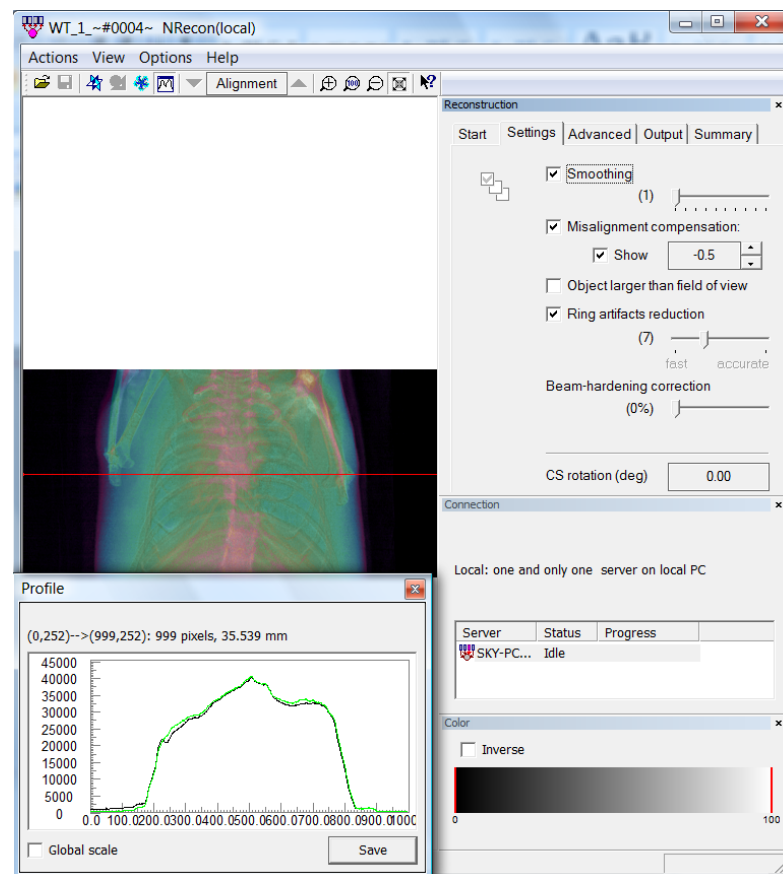


Figura 9: Maschera delle Impostazioni con la modalità di visualizzazione dell'allineamento.

Il numero totale di sezioni ricostruite per ogni campione è stato di circa 950, ottenendo informazioni assiali su circa 9 mm di spessore del dente.

In seguito la sequenza delle sezioni di ciascun campione sono state importate nel software di analisi tridimensionale (3D) VGStudioMAX (Software CT-Analyzer Volume Graphics GmbH versione 1.2.1; Heidelberg, Germany, 2005) per effettuare l'analisi delle immagini e la

valutazione della formazione di microporosità all'interno del composito e a livello dell'interfaccia dente-restauro. Lo strumento di analisi dei difetti, denominato *Defect Analysis Tool*, è progettato per elaborare set di dati voxel per difetti interni e non di superficie; cioè, l'algoritmo di rilevamento dei difetti elaborerà un intero set di dati per le aree scure chiuse all'interno di materiali densi (vedi Fig.).

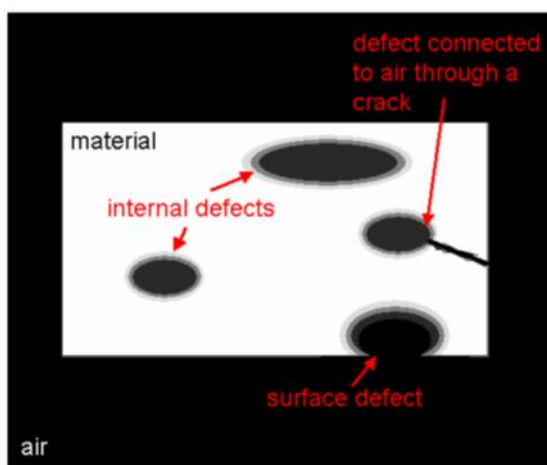


Figura 10: Immagine stilizzata di una sezione con grandi difetti: *Defect Analysis Tool* rileva solo i difetti interni.

Dopo un semplice processo di calibrazione, lo strumento rileva automaticamente i difetti interni e fornisce risultati dettagliati dell'analisi con informazioni su ogni singolo difetto e informazioni statistiche. Viene generato un rapporto di analisi dei difetti che contiene informazioni come posizione, dimensioni, superficie volume di ogni singolo difetto, il volume totale dei difetti in relazione al volume complessivo del materiale così come informazioni sulla porosità 2D. Lo strumento di analisi dei difetti è stato pensato per essere utilizzato per elaborazioni in 3D, ad es. su sequenze di immagini continue scansionate, o per elaborazione dei dati in 2D, studiando il campione fetta per fetta, ad es. per elaborare pile non continue di immagini scansionate.

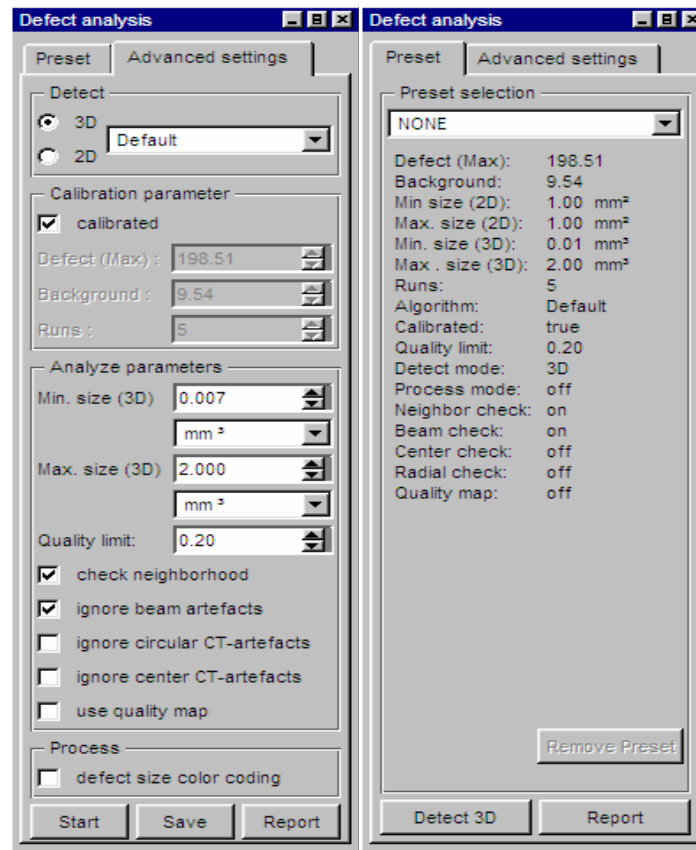


Figura 11,12: Esempio di finestra di dialogo del Defect Analysis Tool.

Un primo passaggio dell'algoritmo individua il cosiddetto "seedvoxel". I seedvoxel sono voxel con un valore di grigio inferiore al livello di grigio massimo per il difetto (Difetto MAX). Questo valore, definito dall'utente, per la nostra ricerca è stato impostato a 42 su una scala di grigi da 0 a 255.

Nel secondo passaggio, il cosiddetto "controllo dimensionale", ciascuno dei seedvoxel verrà elaborato per verificare se l'area del potenziale difetto contenente il seedvoxel rientra nell'intervallo di dimensioni definito (Min / Max parametri di dimensione).

I parametri di dimensione del difetto sono stati così calibrati:

- Min. size (3D): 64000 μm^3
- Max. size (3D): 5,000 mm^3

E' importante sottolineare ancora che questo strumento di analisi è stato utilizzato esclusivamente per localizzare i difetti interni. Un difetto localizzato in superficie o collegato con l'esterno non viene rilevato ed elaborato perché non contenuto nell'intervallo dimensionale definito. Quindi per la valutazione della formazione di gap marginale del restauro è stato utilizzato il Microscopio Elettronico a Scansione (SEM).

5.1.4. Valutazione al SEM

La morfologia di superficie, come precedentemente detto, è un aspetto qualitativo che viene osservato tramite analisi dei campioni per mezzo di un microscopio elettronico a scansione. Per questo studio è stato utilizzato un microscopio elettronico *Carl Zeiss SUPRATM 40* (Figura) (gentile concessione del Dipartimento SIMAU, Facoltà di Ingegneria, UNIVPM).



Figura 13: Microscopio elettronico Zeiss SUPRATM 40.

Per permettere l'analisi dei campioni è stato necessario applicare uno strato di particelle d'oro per renderli elettroconduttivi. (Figura)

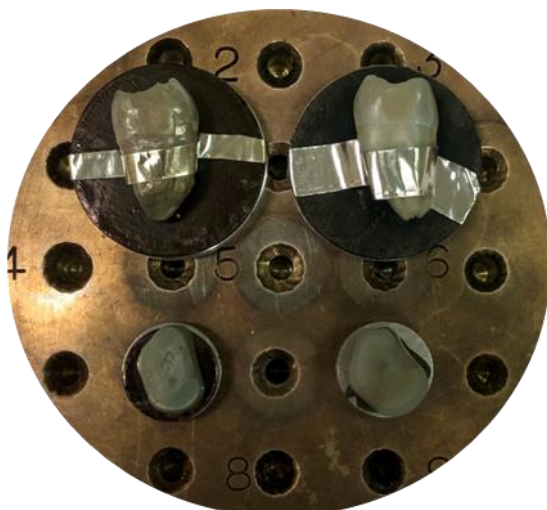


Figura 14: Campioni interi e sezionati sottoposti a doratura.

Sono state scelte immagini a diverso ingrandimento per ogni campione, in modo da poter esaminare la morfologia delle resine composite al termine del restauro. Inizialmente sono stati valutati i sigilli marginali della superficie esterna del restauro. Dopo di che, tutti i campioni sono stati sezionati secondo il piano assiale con una sega a lama diamantata (Bhueler IsoMet™, USA) per visualizzare l'adattamento marginale interno e l'eventuale presenza di difetti interni al restauro. Per l'analisi al SEM le superfici dei campioni sezionati sono state rifinite e lucidate con una lappatrice (Bhueler Metaserv™, USA) mediante carte abrasive in carburo di silicio a grana 600 e 800 (FEPA P).

5.1.5. Analisi Statistica

Tutti i valori sono stati espressi come media (m) e deviazione standard (sd). Per l'analisi statistica di tutti i dati ottenuti dalla micro-CT è stato utilizzato il T-test student (software SigmaStat 3.5, Systat, San Jose, California). Il significato statistico è stato fissato a $p < 0,05$. Al di sopra di questo valore soglia tutti i risultati saranno considerati non statisticamente significativi.

5.2. RISULTATI

5.2.1. Risultati analisi μ -CT

Le tabelle 2 e 3 mostrano i risultati quantitativi ottenuti mediante analisi delle porosità interne con μ -CT. I valori riportati riguardano: il numero di difetti rilevati all'interfaccia (n.Defect); il volume complessivo dei difetti espresso in μm^3 (Defect Volume), la superficie specifica data dal rapporto tra la superficie e il volume della totalità dei difetti espresso in μm^{-1} (DS/DV); lo spessore medio tra le porosità presenti espresso in μm (Mean thickness); il rapporto tra il volume del difetto e quello della totalità dei materiali mineralizzati (smalto, dentina, composito) in percentuale (D/M).

	n.Defect	Defect Volume (μm^3)	DS/DV (μm^{-1})	Mean thickness (μm)	D/M (%)
BG1	42	232224304	0,073	27	0,028
BG2	22	41644420	0,103	19	0,006
BG3	48	46696928	0,099	20	0,006

Tabella 2: Risultati analitici ottenuti nel Gruppo BG.

	n.Defect	Defect Volume (μm^3)	DS/DV (μm^{-1})	Mean thickness (μm)	D/M (%)
BT1	22	4542178816	0,023	86	0,613
BT2	40	661246208	0,050	40	0,082
BT3	15	1449250944	0,014	138	0,138

Tabella 3: Risultati analitici ottenuti nel Gruppo BT.

In alcuni dei campioni analizzati sono state riscontrate porosità riconducibili a demineralizzazioni smalto-dentinali proprie degli elementi dentari esaminati, che sono state escluse dai calcoli volumetrici. Pertanto, per evitare falsi positivi i volumi dei difetti non inclusi nello studio sono stati sottratti dall'analisi totale come riportato (evidenziato in rosso) nelle Tabelle 4 e 5.

	n.Defect	Defect Volume (μm^3)	DS/DV (μm^{-1})	Mean thickness (μm)	D/M (%)
BG1	20	195351176	0,073	27	0,024
BG2	22	41644420	0,103	19	0,006
BG3	20	46696928	0,099	20	0,000

Tabella 4: Risultati corretti sulla base di esclusione di difetti interni non inclusi nel nostro studio nei BG.

	n.Defect	Defect Volume (μm^3)	DS/DV (μm^{-1})	Mean thickness (μm)	D/M (%)
BT1	21	2781432320	0,023	86	0,376
BT2	40	661246208	0,050	40	0,082
BT3	15	1449250944	0,014	138	0,138

Tabella 5: Risultati corretti sulla base di esclusione di difetti interni non inclusi nel nostro studio nei BT.

Nelle Figure seguenti sono rappresentate le immagini 3D dei campioni con difetti con colorazione diversa in base alle dimensioni.

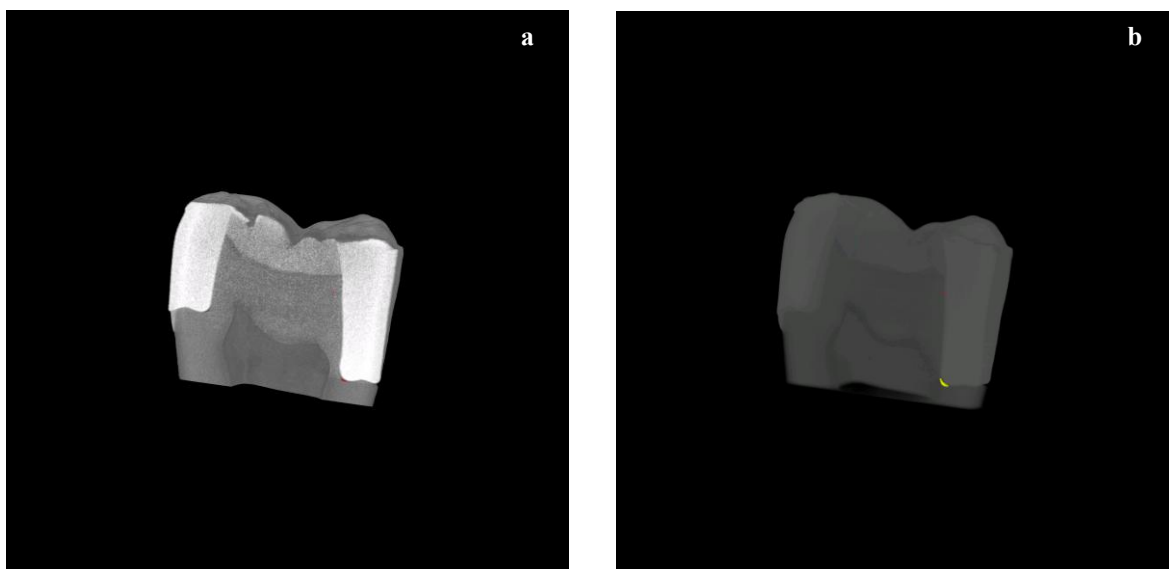


Figure 15 a-b: Immagini ottenute mediante μ -CT. Ricostruzioni 3D del campione BG1 con presenza di difetti sul margine interno (area in giallo).

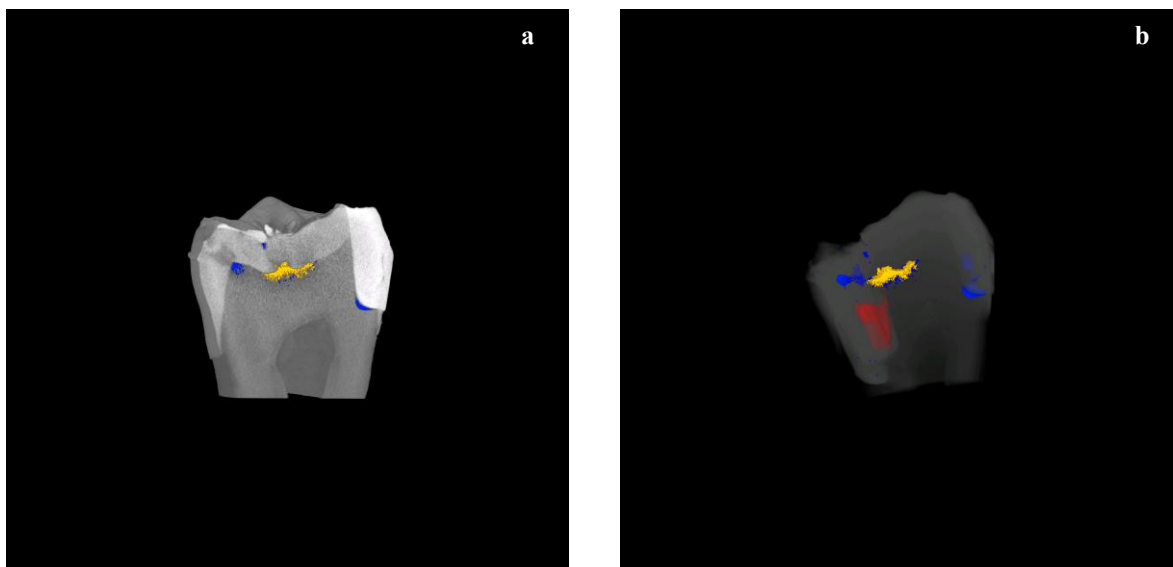


Figure 16 a-b: Immagini ottenute mediante μ -CT. Ricostruzioni 3D del campione BT1 con presenza di difetti. In questo campione sono presenti evidenti demineralizzazioni smalto-dentinali (area gialla) che sono state sottratte dal calcolo totale numerico e volumetrico dei difetti rilevati dall'analisi. Risultano visibili i difetti all'interno del restauro (area rossa) e nell'interfaccia dente-composito (area blu).

5.2.2. Risultati analisi SEM

Nelle Figure seguenti vengono mostrate le immagini acquisite al SEM.

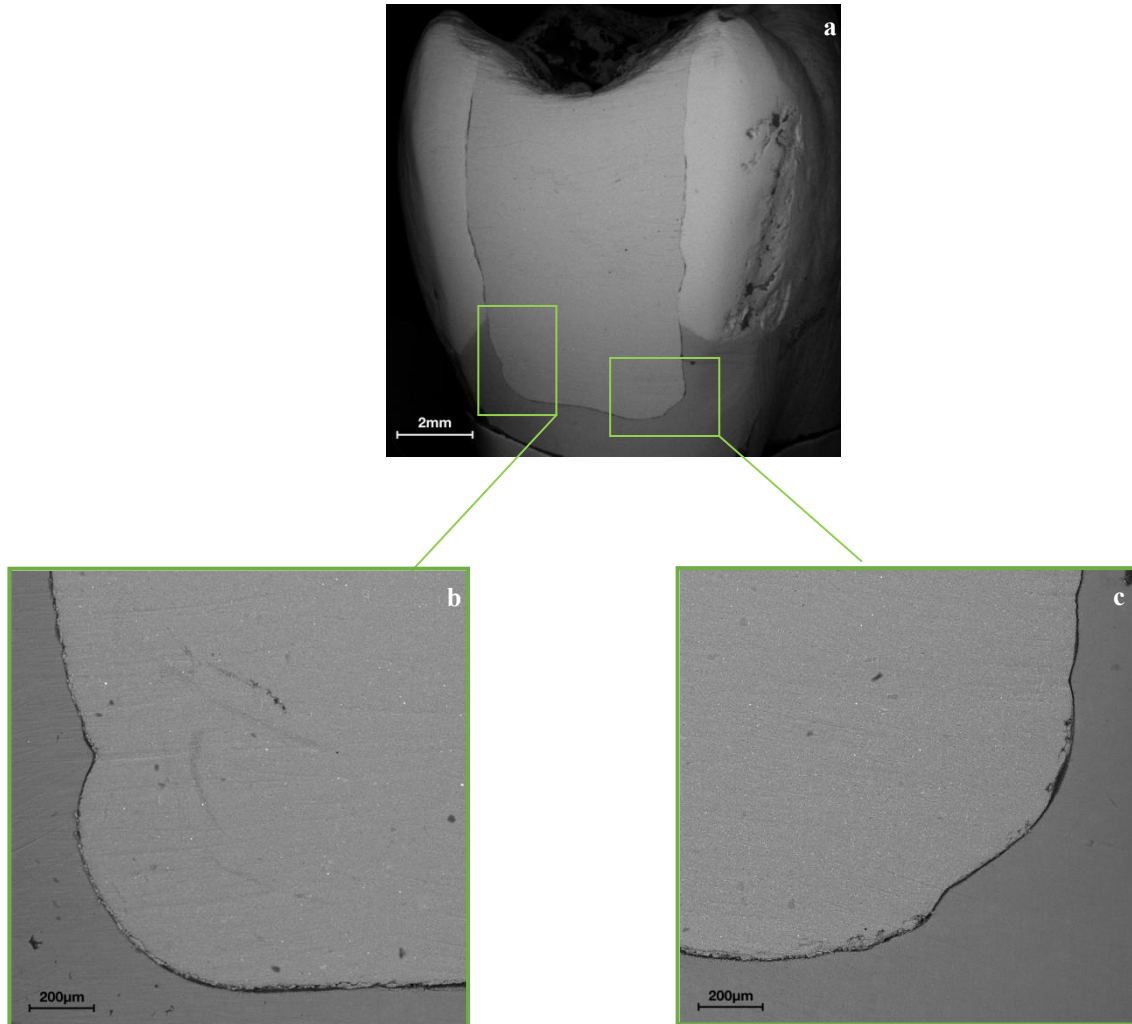


Figure 17 a-c: Le micrografie mostrano la superficie prossimale del campione BGI (a). Le immagini (b) e (c) a maggior ingrandimento (magnification 150x) evidenziano l'interfaccia tra le diverse strutture presenti (dente-composito).

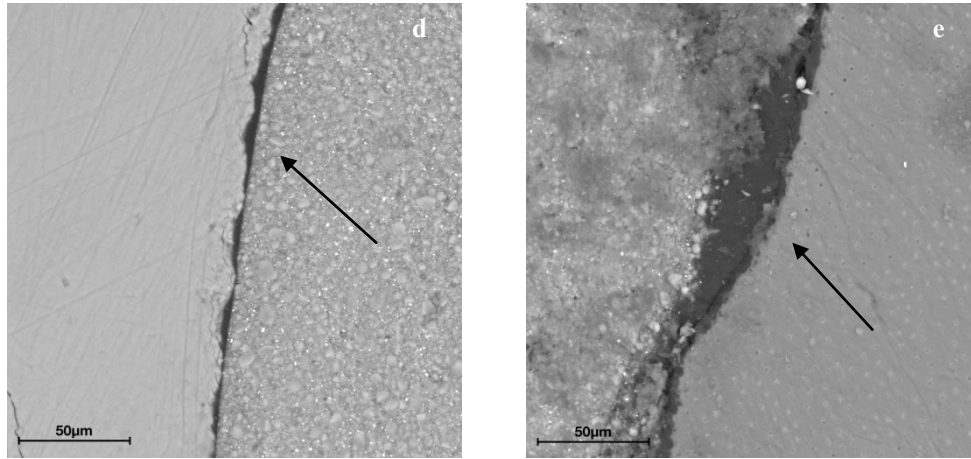


Figure 17 d-e: Immagini della superficie del campione BG a ulteriore ingrandimento (magnification 1000x). Mostrano, come indicato dalle frecce, il sigillo marginale del restauro con presenza dello strato adesivo tra dente e composito il senza formazione di gap.

Le immagini che seguono sono realizzate su dei tagli assiali effettuati in corrispondenza dei difetti rilevati dalla μ -CT.

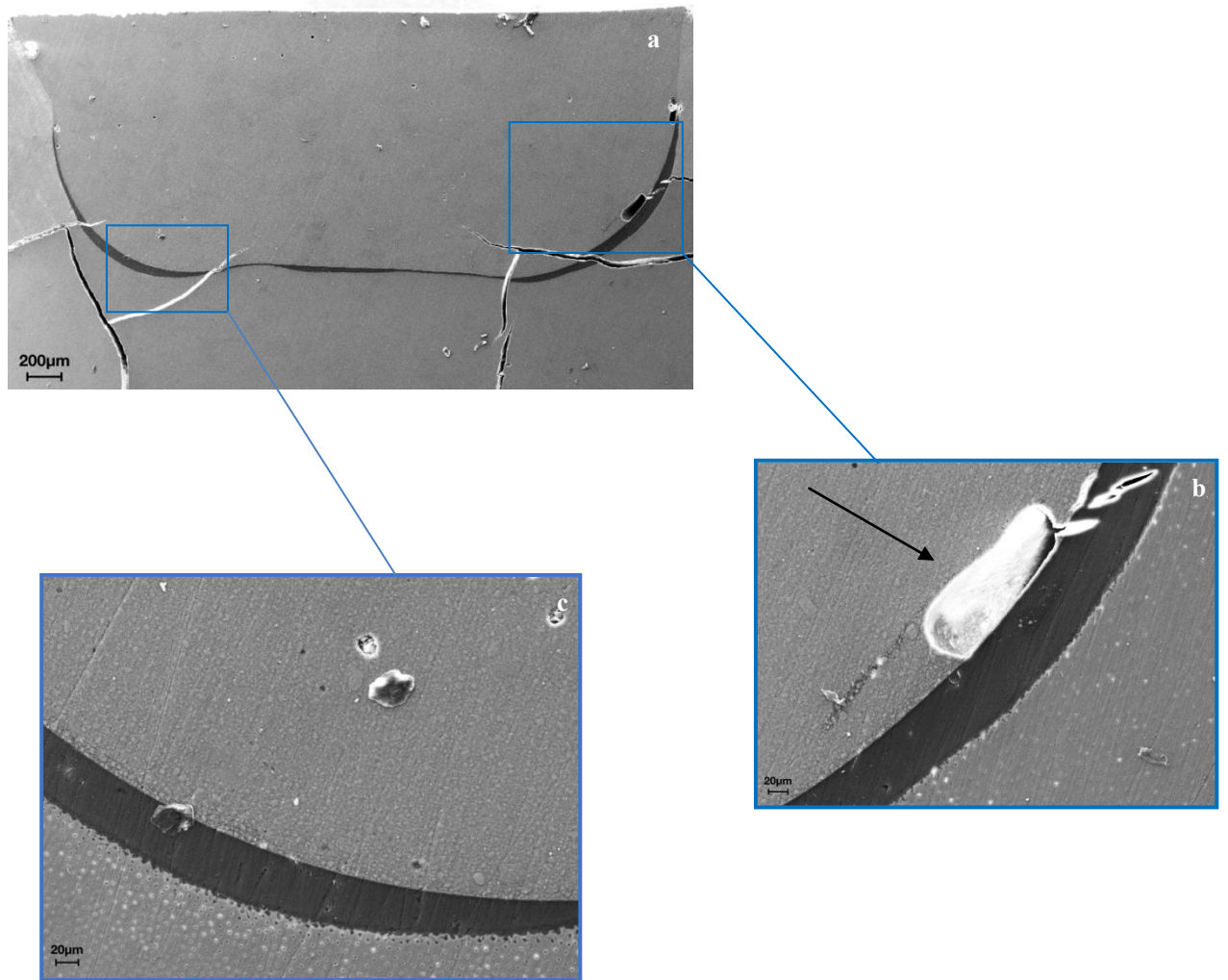


Figure 18 a-c: Le micrografie mostrano la superficie assiale del campione BG1 (a). Le diverse fratture presenti sono il risultato del taglio per l'analisi del campione. Tuttavia, le immagini (b) e (c) a maggior ingrandimento (magnification 600x) evidenziano l'assenza di gap nell'interfaccia tra dente e composito. Nella figura (b) è presente un gap tra adesivo e composito (freccia).

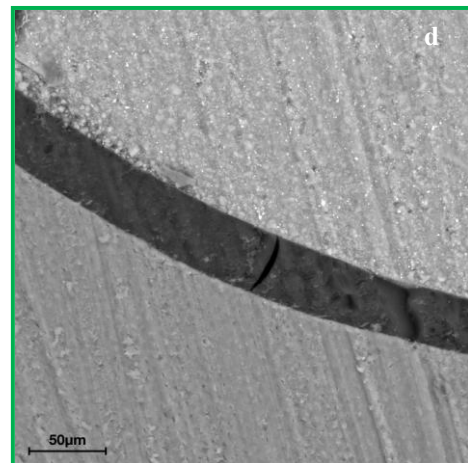
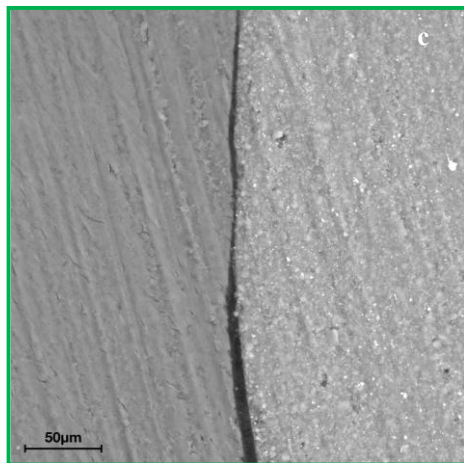
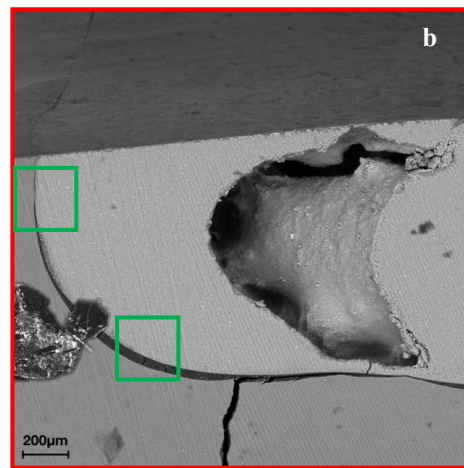
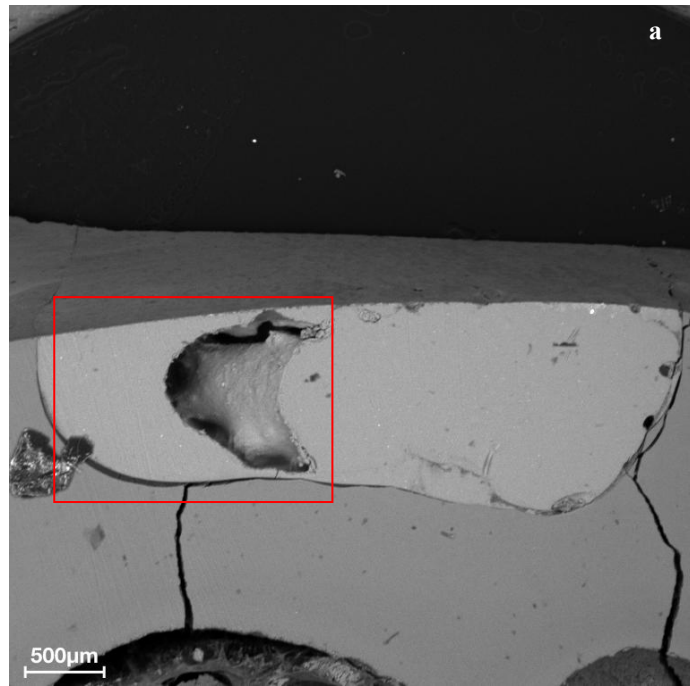


Figure 19 a-d: Le micrografie mostrano la superficie assiale del campione BT1 (magnification 50x) (a). Le diverse fratture presenti sono il risultato del taglio per l'analisi del campione. L'immagine (b) a maggior ingrandimento (magnification 100x) evidenzia la presenza di un difetto interno al composito. Tuttavia nelle figure (c) e (d) ad alto ingrandimento (magnification 700x) è significativa l'integrità del sigillo interno in tutta l'interfaccia dente-composito.

5.2.3. Analisi Statistica

Dai risultati del T-test emerge che non esiste una differenza significativa tra i due gruppi BG e BT per il parametro n.Defect, poiché $p > 0,05$ (p value = 0,571).

I valori della Media e della Deviazione Standard sono i seguenti:

BG: $m = 20,67$; $sd = 1,15$

BT: $m = 25,33$; $sd = 13,05$

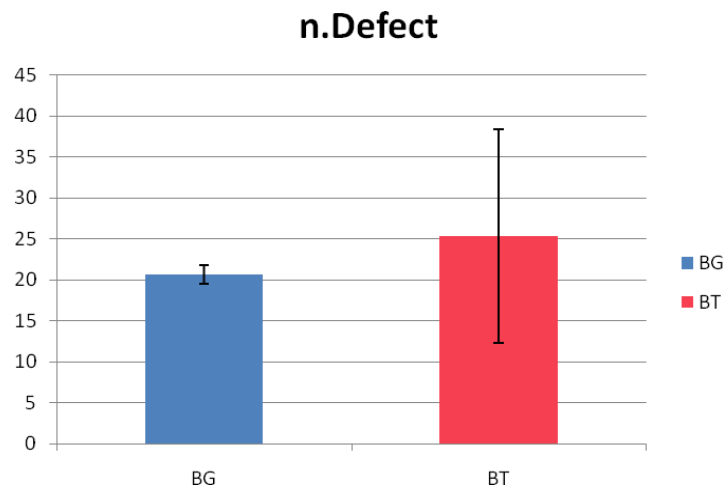


Figura 21: Grafico che mostra i valori della media e deviazione standard per il parametro n.Defect in BG e BT.

La differenza nei valori medi dei due gruppi calcolata per il volume della porosità non è statisticamente rilevante ma è dovuta alla variabilità casuale del campione. (p value= 0,068).

I valori della Media e Deviazione Standard sono i seguenti:

BG: $m = 92190103$; $sd = 89346102$

BT: $m = 1630643157$; $sd = 1071669090$

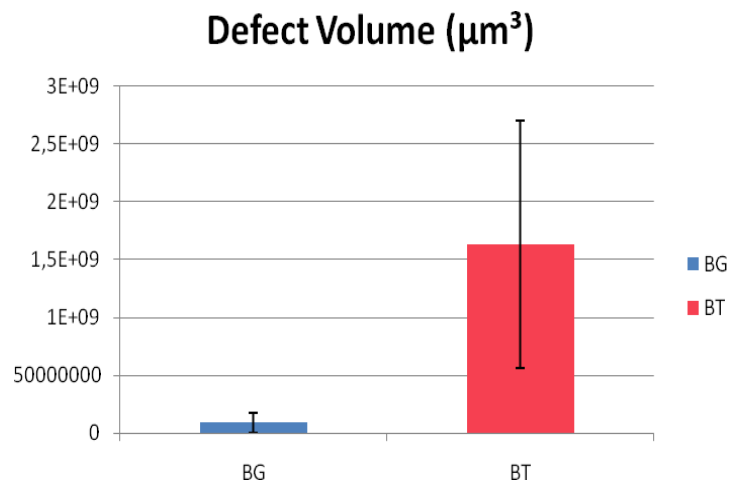


Figura 22: Grafico che mostra i valori della media e deviazione standard per il parametro Defect Volume in BG e BT.

Per la valutazione della superficie specifica del difetto (DS/DV), dai test statistici eseguiti si è evidenziata una differenza statisticamente significativa poiché $p < 0,05$ (p value = 0,012). Questo dimostra come varia la distribuzione superficiale del difetto tra i due gruppi: nel gruppo BG il difetto presenta una forma più laminare, mentre nel gruppo BT la porosità ha tendenzialmente un aspetto a bolla.

I valori della Media e Deviazione Standard sono i seguenti:

BG: $m = 0,091$; $sd = 0,016$

BT: $m = 0,029$; $sd = 0,019$

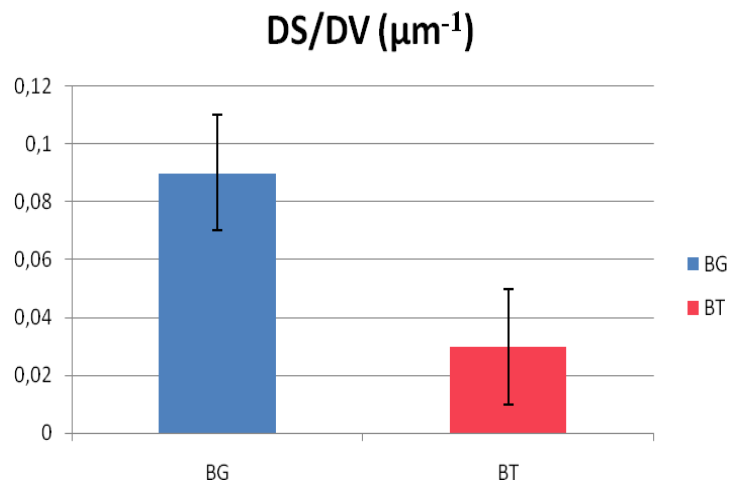


Figura 23: Grafico che mostra i valori della media e deviazione standard per DS/DV in BG e BT.

Non esiste una differenza statisticamente significativa tra i gruppi BG e BT per lo spessore medio del difetto ($p = 0,081$).

I valori della Media e Deviazione Standard sono i seguenti:

BG: $m = 22$; $sd = 4$

BT: $m = 88$; $sd = 49$

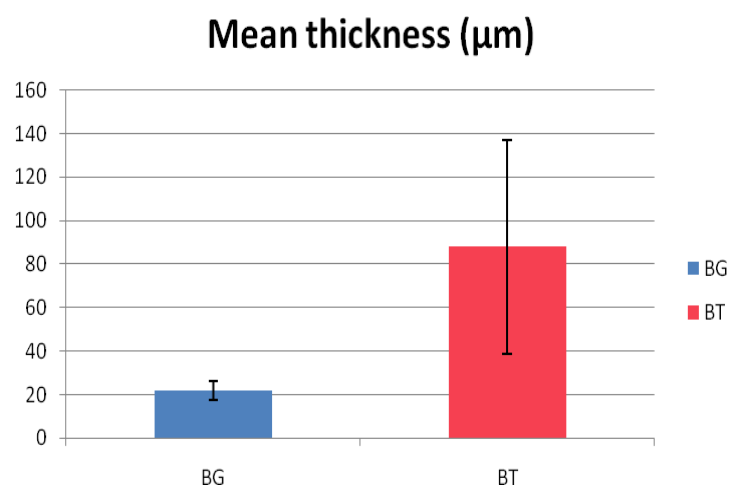


Figura 24: Grafico che mostra i valori della media e deviazione standard per il parametro Mean Thickness in BG e BT.

Non esiste una differenza statisticamente significativa tra i gruppi esaminati per il rapporto volumico tra i difetti e il materiale mineralizzato dentale (D/M), ($p = 0,105$).

I valori della Media e Deviazione Standard sono i seguenti:

BG: $m = 0,01$; $sd = 0,01$

BT: $m = 0,20$; $sd = 0,09$

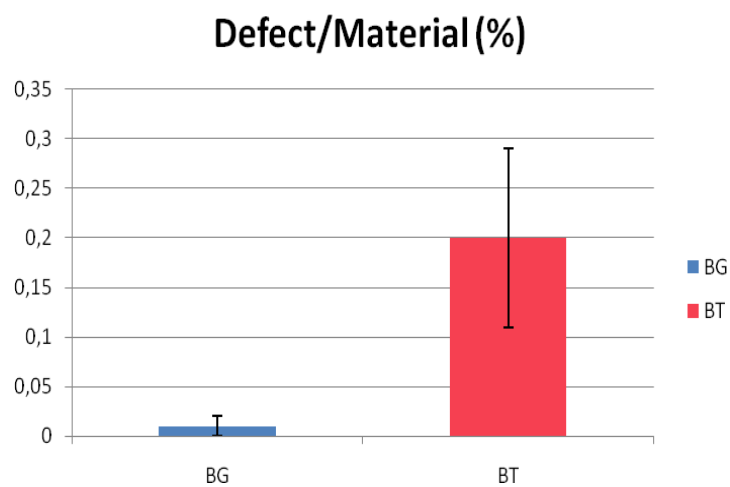


Figura 25: Grafico che mostra i valori della media e deviazione standard per D/M in BG e BT.

Dal test statistico eseguito risulta un alto valore della deviazione standard. per il gruppo BT , con particolare riferimento ai parametri n.Defect, Defect Volume, Mean Thickness e al rapporto Defect/Material.

6.DISCUSSIONE

Lo studio sperimentale condotto in questa Tesi ha valutato la formazione di microleakage e del gap marginale, in cavità di II classe restaurate con BFC, mediante due diverse tecniche di riempimento: Bulk&Go technique (BG, un solo incremento) e Bulk Tradizionale (BT, iniziale ricostruzione della parete prossimale e successivo riempimento con un' unica apposizione).

Nella maggior parte dei restauri sono stati osservati difetti nella superficie assiale e nella parte interna del restauro, come riportato anche da studi precedenti (Algamaiah et al., 2017; Sampaio et al., 2017; Diaz et al., 2019; Hirata et al., 2018); e in minor parte sono stati rilevati sulle pareti mesiodistali e buccolinguali di restauri, non completamente in accordo con i risultati di studi precedenti, che correlavano una maggiore contrazione nelle superfici libere (pareti occlusali) (Algamaiah et al., 2017; Sampaio et al., 2017). Questo risultato era atteso nonostante la moderna formulazione dei BFC, che per essere polimerizzati ad una profondità di 4-5 mm, presentano nella loro composizione monomeri antistress e modulatori di polimerizzazione (Moszner et al., 2008; Son et al., 2017). Infatti nella formulazione chimica del Filtek One Bulk-fill, utilizzato per il nostro studio, è stato introdotto un dimetacrilato di uretano modificato (AUDMA - dimetacrilato di uretano aromatico), che presenta un elevato peso molecolare. Tuttavia, in questo studio, sebbene i produttori affermino che è prevista una riduzione dello stress, tale composito presenta diverse lacune interfacciali nelle due tecniche proposte (BG e BT), sia per le cavità 1 mm sopra alla CEJ, sia per quelle 1mm sotto alla CEJ. L'entità dello stress da contrazione da polimerizzazione è influenzata da diversi fattori come la configurazione della cavità e le proprietà del materiale. La configurazione cavitaria dipende

dalla dimensione della cavità, dal rapporto tra le superfici adese e non adese, note come C-factor, e dalla conformità della parete della cavità. Il C-factor è un'importante variabile che deve essere considerata quando si posizionano i materiali compositi all'interno della cavità (Han et al., 2016). Per questo motivo, nella pratica clinica, quando si deve restaurare una cavità di seconda classe, si realizza prima la parete interprossimale, in modo da trasformare la cavità di seconda classe in una di prima classe. In questo modo si ottiene un C-factor più favorevole. Riguardo il rapporto C-factor e microleakage, da alcuni autori è stato riportato che non vi è alcuna relazione tra il C-factor e la dimensione del gap nei restauri con diversi C-factor (Uno et al., 1999). I nostri risultati sono in accordo con quanto precedentemente riportato da Uno et al., in quanto sia nella tecnica con unico riempimento BG che nella tecnica BT con costruzione della parete prossimale non vi è alcuna differenza statisticamente rilevante nella presenza di difetti.

Un'altra ricerca ha suggerito che il microleakage sembrava essere correlato al volume del restauro ma non al suo C-factor (Braga et al., 2006). Inoltre, la conformità del substrato influenza lo sviluppo dello stress. Di recente, Wang et al. hanno pubblicato che la correlazione tra stress da polimerizzazione e C-factor potrebbe essere diversa, a seconda della conformità della cavità (Wang et al., 2016).

La formazione di microleakage e gap marginale sono tra i problemi più comuni associati a restauri in resina composita (Duquia et al, 2006). Tali difetti possono derivare da un'aderenza inadeguata all'interfaccia del restauro a causa della contrazione da polimerizzazione, dalla degradazione delle componenti adesive per insufficiente fotopolimerizzazione, dai differenti coefficienti di dilatazione termica del substrato dentale e della resina composita e dalle procedure di rifinitura e lucidatura (Kwon et al, 2012). I metodi convenzionali per la valutazione della formazione di gap sono distruttivi, a causa della necessità di sezionare i

campioni, o sono semiquantitativi sulla base di valutazioni visive da parte dell'operatore. Inoltre, essi non rappresentano l'intera area di formazione del gap (Tay et al, 2003). Come in recenti studi (Hirata et al, 2015), per la valutazione quantitativa di microleakage, in questo studio si è utilizzato la μ -CT. Per una migliore definizione della natura dei gap formati, evidenziati con μ -CT, è stato scelto un metodo di valutazione distruttivo come la microscopia elettronica (SEM).

Dai risultati ottenuti, mediante analisi μ -CT e SEM, si evince che le due tecniche analizzate BG e BT hanno presentato la formazione di microporosità interne con volume, localizzazione e aspetto differenti.

Il sistema di analisi dei difetti nelle immagini 3D è stato calibrato in modo tale da rilevare difetti con volume minimo di 40 μ , indicato come valore soglia. Risulta evidente la presenza di difetti interni volumetricamente maggiori nei gruppi BT rispetto ai gruppi BG: il valore medio del Defect Volume in BG è stato 92190103,3 μm^3 mentre in GT 1630643157,3 μm^3 . La deviazione standard, ovvero l'indice di dispersione statistico per il Defect Volume, in BT risulta essere elevato. Questo valore indica che la riproducibilità della tecnica di riempimento BT ha una grande variabilità, il che significa che ogni qualvolta la tecnica viene riprodotta, avremo un risultato sempre diverso che si allontana dal valore medio. Questa variabilità dipende da diversi fattori: dal tipo di materiale, dal tipo di cavità e dall'operatore. Riguardo la localizzazione, i difetti in BG sono stati riscontrati prevalentemente a livello dell'interfaccia dente-restauro mentre in BT internamente al restauro. La formazione di vuoti all'interno della ricostruzione in composito è strettamente legata alla tecnica di posizionamento del materiale. Come riportato dalla letteratura, nelle tecniche di riempimento in cui l'applicazione del composito viene eseguita in più fasi, vi è tra gli svantaggi la possibilità di intrappolare vuoti tra gli strati (Park et al, 2008; Hirata et al, 2018). Questo risultato è evidenziato dai dati

statistici ottenuti, che indicano una differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$) tra le due tecniche solo per il valore DS/DV, parametro che rappresenta la superficie specifica del difetto. Nella tecnica BG le porosità interne tendono ad avere una forma più laminare mentre in BT una forma più tondeggiante, con tendenza alla formazione di vere e proprie bolle. Ciò è dovuto alla diversa tecnica di riempimento della cavità, dunque nella procedura BT eseguita in 2 fasi differenti, vi è la possibilità di inglobare aria all'interno del restauro.

Uno dei limiti della tecnica μ -CT è che i materiali senza sufficiente radiopacità e con basso contenuto di filler o assente come per gli adesivi dentali, risultano difficili da visualizzare attraverso la ricostruzione del software (Chiang et al, 2010; Papadogiannis et al, 2009). Il rilevamento delle porosità su scala micron risulta molto complicato a causa della poca differenza di radiopacità tra adesivo e aria (Sadr et al, 2011). Pertanto, con l'analisi μ -CT non si ha la certezza che il difetto evidenziato sul margine interno sia costituito da un vuoto d'aria perché ciò che si osserva dalle immagini è solo una differente colorazione nella scala di grigi che indica la presenza di una porosità.

Infatti, da una attenta visualizzazione al SEM nei tagli assiali dei campioni, non sono stati riscontrati veri gap all'interfaccia, al contrario di quanto evidenziato dalla μ -CT. La porosità rilevata è riconducibile allo strato adesivo con spessore variabile da 10 a 60 μ . Dunque, in entrambe le tecniche (BG e BT) non vi è la formazione di difetti sul margine interno ma di strato ibrido e strato adesivo come mostrano le figure 26 e 27.

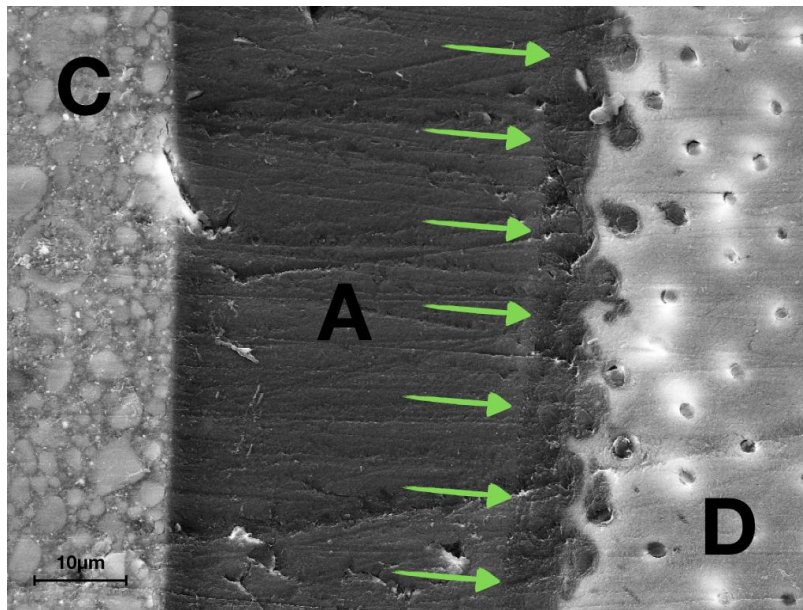
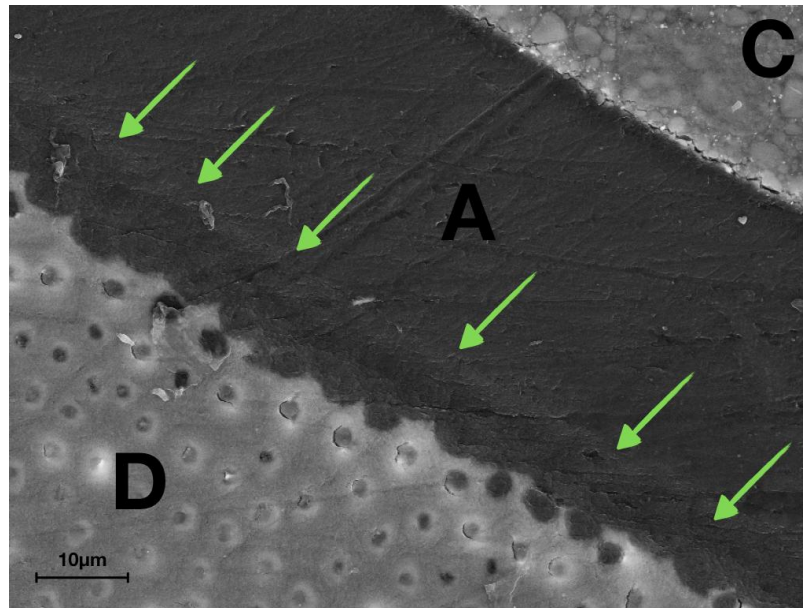


Figure 26, 27: Le micrografie mostrano le tre diverse componenti della superficie analizzata: Composito (C), Adesivo (A) e Dentina (D). Si apprezza la formazione dello strato ibrido lungo tutta l'interfaccia adesivo-dentina (freccie verdi).

Per confermare questo dato visivo, è stata effettuata un'analisi chimica che ha confermato la presenza di elementi chimici propri del sistema adesivo utilizzato per il restauro (Figura 28).

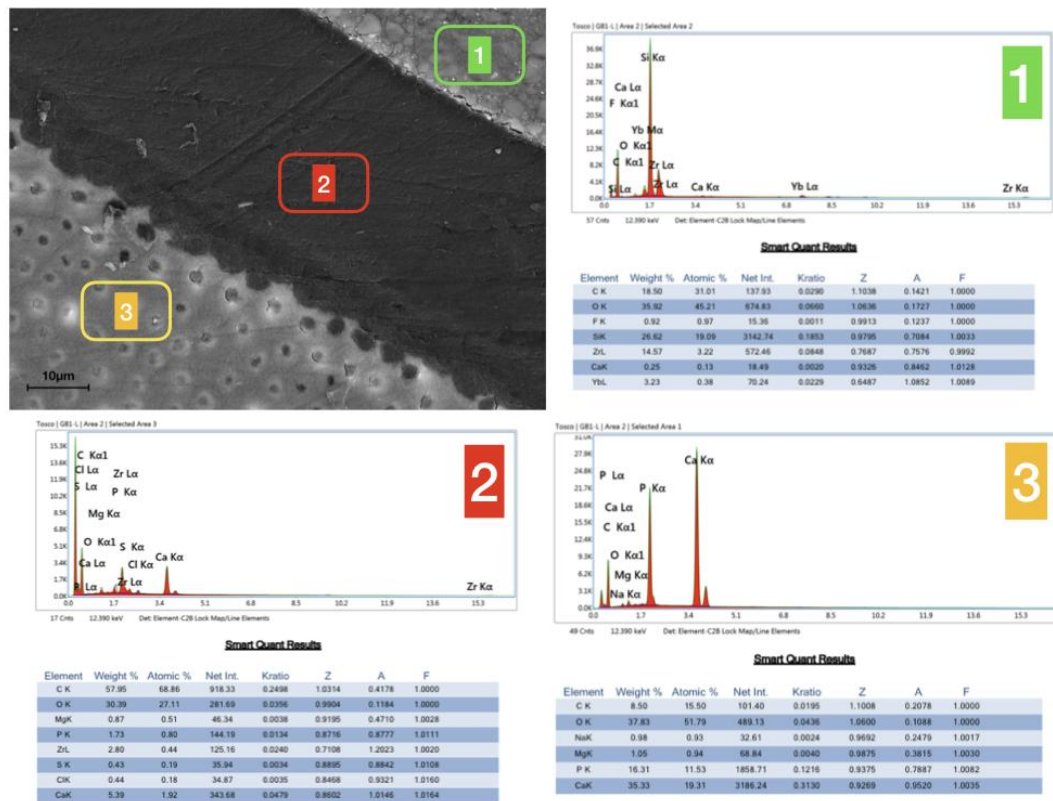


Figura 28: L'immagine analizzata mediante microanalisi (EDAX ELEMENT) analizza gli elementi presenti sulle tre superfici: composito (grafico 1), adesivo (grafico 2) e dentina (grafico 3). Il grafico 2 evidenzia la presenza degli elementi chimici propri dell'adesivo utilizzato (carbonio, C 57,95%).

Il microleakage è uno dei più importanti fattori che contribuisce al fallimento dei restauri. Per ottenere successo nei restauri compositi posteriori diretti, è fondamentale mantenere l'integrità del sigillo marginale (Guo et al, 2016). Il sigillo marginale nei restauri diretti coinvolge diversi fattori: la configurazione cavitaria, la proprietà fisico-meccanica e viscoelastica della resina composita, del legame adesivo, la tecnica di restauro e il metodo di polimerizzazione (Van Ende et al, 2017; Han et al., 2016). La formazione di gap marginali è il

risultato di un cedimento localizzato (Braga et al., 2004) ed è un problema in cui si trova il microgap nelle interfacce dente-restauro, con conseguente perdita. Tuttavia, dalla letteratura si evince che il gap marginale non è sempre correlato ad un mancato adattamento interno (Hannig et al., 2001). Infatti, in questo studio, in entrambe le tecniche si è mantenuta l'integrità marginale esterna nonostante la presenza di gap interni. Per questo motivo, dai risultati ottenuti, le tecniche BG e BT possono considerarsi sovrapponibili per l'adattamento interno ed esterno a livello dell'interfaccia.

7.CONCLUSIONI

I risultati ottenuti da questo studio ci permettono di concludere che le due tecniche di bulk-filling esaminate BG e BT non mostrano evidenti differenze nell'adattamento marginale interno ed esterno del restauro. La quantità e la distribuzione delle porosità visualizzate nelle immagini μ -CT risultano essere strettamente correlate alla tecnica di posizionamento del materiale composito. Come mostrato dall'analisi qualitativa al SEM, in BT vi è la maggiore probabilità di inglobare aria all'interno del restauro.

Sono necessari ulteriori studi sperimentali con un numero maggiore di campioni per confermare i risultati. Ciononostante, la tecnica BG può rappresentare una vera innovazione in odontoiatria restaurativa diretta. Infatti, grazie alle proprietà meccaniche superiori dei nuovi BFC, BG rappresenta una tecnica semplice, riproducibile, sicura e rapida, che ogni clinico, indipendentemente dalla competenza e dall'esperienza, può eseguire per realizzare un corretto restauro di II classe.

8.BIBLIOGRAFIA

- Abbas G, Fleming G J, Harrington E, Shortall A C and Burke F J, 2003. Cuspal movement and microleakage in premolar teeth restored with a packable composite cured in bulk or in increments. *J.Dent*; 31,437–444.
- Abed YA, Sabry HA, Alrobeigy NA, 2015. Degree of conversion and surface hardness of bulk-fill composite versus incremental fill composite. *Talanta Dent J*;12:71-80.
- Algamaiah H, Sampaio CS, Rigo LC, Janal MN, Giannini M, Bonfante EA, et al., 2017. Microcomputed tomography evaluation of volumetric shrinkage of bulk-fill composites in class II cavities. *J Esthet Restor Dent*; 29:118–27.
- Anderlini G, 1993. *Manuale per Compositi e Tecniche Adesive*. Bologna: Edizioni Martina.
- Anusavice K, Shen C, and Rawls H, 2012. *Phillips' Science of Dental Materials*. 12th ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Arola D, Bajaj D, Ivancik J, Majd H, Zhang D, 2010. Fatigue of biomaterials: Hard tissues. *Int J Fatigue*; 32, 1400-1412.
- Arrais CAG, Oliveira MT de, Mettenburg D, Rueggeberg FA, Giannini M, 2013. Silorane- and high filled-based “low-shrinkage” resin composites: shrinkage, flexural strength and modulus. *Braz Oral Res*; 27: 97–102.
- Attar, N, Tam, L E, and McComb D, 2003. Flow, strength, stiffness and radiopacity of flowable resin composites. *J Can Dent Assoc*; 69, 516–521.
- Braga RR, Ballester RY, Ferracane JL, 2005. Factors involved in the development of polymerization shrinkage stress in resin-composites: a systematic review. *Dent Mater*; 21:962–970.

- Braga RR, Boaro LC, Kuroe T, Azevedo CL, Singer JM, 2006. Influence of cavity dimensions and their derivatives (volume and $\underline{C'}$ factor) on shrinkage stress development and microleakage of composite restorations. *Dent Mater*; 22:818–23.
- Braga RR, Ferracane JL, 2004. Alternatives in polymerization contraction stress management. *J Appl Oral Sci*;12:1–11.
- Cattaruzza M, and Spizzo F, 2012. Lampade MultiWave - Osservazioni sullo spettro di emissione luminosa.
- Cerutti A, Mangani F, and Putignano A, 2007. *Odontoiatria Estetica Adesiva. I.* Quintessenza Edizioni.
- Chandrasekhar V, Rudrapati L, Badami V, Tummala M, 2017. Incremental techniques in direct composite restoration. *J Conserv Dent*; 20:386-391.
- Chiang YC, Rosch P, Dabanoglu A, Lin CP, Hickel R et al., 2010. Polymerization composite shrinkage evaluation with 3D deformation analysis from microCT images. *Dent Mater*;26: 223–231.
- Cidreira Boaro LC, Pereira Lopes D, de Souza ASC, et al., 2019. Clinical performance and chemical-physical properties of bulk fill composites resin -a systematic review and meta-analysis. *Dent Mater.*; 35:e249-e264.
- Craig R G,1981. Chemistry, composition, and properties of composite resins. *Dent.Clin. North Am*; 25, 219–239.
- Czasch P, and Ilie N, 2013. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. *Clin.Oral Investig*; 17,227–235.
- Diaz CP, Shimokawa C, Sampaio CS, Freitas AZ, Turbino ML, 2019. Characterization and comparative analysis of voids in classII composite resin restorations by optical coherencetomography. *Oper Dent*; 45:71-79.

- Duquia Rde C, Osinaga PW, Demarco FF, De V Habekost L, Conceição EN, 2006. Cervical microleakage in MOD restorations: in vitro comparison of indirect and direct composite. *Oper Dent*; 31:682-7.
- El-Damanhoury HM, Platt JA, 2014. Polymerization Shrinkage Stress Kinetics and Related Properties of Bulk-fill Resin Composites. *Oper Dent*; 39:374-382.
- El-Safty S, Silikas N, Watts DC, 2012. Creep deformation of restorative resin-composites intended for bulk-fill placement. *Dent Mater*; 28:928–935.
- El-Sahn NA, El-Kassas DW, El-Damanhoury HM, Fahmy OM, Gomaa H, et al., 2011. Effect of C-factor on microtensile bond strengths of low-shrinkage composites. *Oper Dent*; 36:281–292.
- Ersen KA, Gürbüz Ö, Özcan M. 2019. Evaluation of polymerization shrinkage of bulk-fill resin composites using microcomputed tomography. *Clin.Oral Investig*; 24:1687-1693.
- Ferracane J L, 2011. Resin composite—State of the art. *Dent Mater*; 27, 29–38.
- Garcia D, Yaman P, Dennison J, Neiva G., 2014. Polymerization shrinkage and depth of cure of bulk fill flowable composite resins. *Oper Dent*; 39:441–48
- García Marí L, Climent Gil A, Llena Puy C, 2019. In vitro evaluation of microleakage in Class II composite restorations: High-viscosity bulk-fill vs conventional composites. *Dent Mater J*; 38:721-727.
- Giuliani A, Cedola A, 2018. Advanced High resolution Tomography in Regenerative Medicine, *Fundament Biomedical Technologies*; Springer 1559-7083,
- Goncalves F, Kawano Y, Braga RR, 2010a. Contraction stress related to composite inorganic content. *Dent Mater* 26:704–9

- Goncalves F, Pfeifer CC, Stansbury JW, Newman SM, Braga RR, 2010b. Influence of matrix composition on polymerization stress development of experimental composites. *Dent Mater*; 26:697–703.
- Guo J, Holmes B, Yang B, Li Y, Heo YC, et al., 2016. Determining the temporal development of dentin-composite bond strength during curing. *Dent Mater*; 32: 1007-1018.
- Han SH, Sadr A, Tagami J, Park SH, 2016. Internal adaptation of resin composites at two configurations: Influence of polymerization shrinkage and stress. *Dent Mater*; 32:1085-1094.
- Hayashi J, Espigares J, Takagaki T, Shimada Y, Tagami J, et al., 2019. Real-time in-depth imaging of gap formation in bulk-fill resin composites. *Dent Mater J*; 35:585–96
- He J, Garoushi S, Vallittu PK, Lassila L, 2018. Effect of low-shrinkage monomers on the physicochemical properties of experimental composite resin. *Acta Biomater Odontol Scand*; 4:30–7.
- Hirata R, Clozza E, Giannini M, Farrokhmanesh E, Janal M, et al., 2015. Shrinkage assessment of low 137 shrinkage composites using micro-computed tomography. *J Biomed Mater Res B*; 103:798–806.
- Hirata R, Pacheco RR, Caceres E, Janal MN, Romero MF, Giannini M, et al., 2018. Effect of sonic resin composite delivery on void formation assessed by micro-computed tomography. *Oper Dent*; 43:144–50.
- Ilie N, Hilton T J, Heintze S D, Hickel R, Watts D C, et al., 2017. Academy of Dental Materials guidance - Resin composites: Part I - Mechanical properties. *Dent Mater*; 33, 880–894.

- Kakaboura A, Rahiotis C, Watts D, Silikas N, Eliades G, 2007. 3D-marginal adaptation versus setting shrinkage in light-cured microhybrid resin composites. *Dent Mater*; 23:272–278.
- Khvostenko D, Hilton T J, Ferracane J L, Mitchell J C, Kruzic J J, 2016. Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations. *Dent. Mater*; 32:73-81.
- Kim H, Park S, 2014. Measurement of the Internal Adaptation of Resin Composites Using Micro-CT and Its Correlation With Polymerization Shrinkage. *Oper Dent*; 39:e57–70.
- Kinomoto Y, Torii M, Takeshige F, and Ebisu S, 1999. Comparison of polymerization contraction stresses between self- and light-curing composites. *J Dent*; 27, 383389.
- Kruzic J, Arsecularatner JA, Tanaka CB, Hoffman MJ, Cesar PF, 2018. Recent advances in understanding the fatigue and wear behavior of dental composites and ceramics. *J Mech Beh Biom Mat*; 88:504-33.
- Kwon Y, Ferracane J, Lee IB, 2012. Effect of layering methods, composite type, and flowable liner on the polymerization shrinkage stress of light cured composites. *Dent Mater*; 28:801-9.
- Leonard D N, Chandler G W, and Seraphin S, 2012. *Characterization of Materials*. John Wiley & Sons Inc; 3Vol, 2nd edition.
- Leprince J G, Palin W M, Hadis M A, Devaux J, and Leloup G, 2013. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dent Mater*; 29, 139–156.

- Loguercio AD, Rezende M, Gutierrez Reyes MF, Costa TF, et al. 2019. Randomized 36-month Follow-up of Posterior Bulk-Filled Resin Composite Restorations. *J of Dent*; 85:93-102.
- Lutz F and Phillips R W, 1983. A classification and evaluation of composite resin systems. *J Prosthet Dent*; 50, 480–488.
- Marghalani H Y, 2016. Resin-Based Dental Composite Materials, in *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*, ed. I. V. Antoniac (Cham: Springer International Publishing); 357–405.
- Monterubbianesi R, Orsini G, Tosi G, Conti C, Librando V, et al., 2016. Spectroscopic and Mechanical Properties of a New Generation of Bulk Fill Composites. *Front Physiol*; 7:652.
- Moszner N, Fischer UK, Ganster B, Liska R, Rheinberger, et al., 2008. germanium derivatives as novel visible lightphotoinitiators for dental materials. *Dent Mater*; 24:901–7.
- Mucci V, Arenas G, Duchowicz R, Cook WD, Vallo C, 2009. Influence of thermal expansion on shrinkage during photopolymerization of dental resins based on bis-GMA/TEGDMA. *Dent Mater*; 25:103–114.
- Negri P, Della Ventura A, and Eramo S, 1992. *Materiali Dentari*. Firenze: Edizioni Scientifiche Firenze.
- Orlowski M, Tarczydlo B, Chalas R, 2015. Evaluation of marginal integrity of four bulk-fill dental composite materials: In vitro study. *Sci World J*: 201-210.
- Papadogiannis D, Kakaboura A, Palaghias G, Eliades G, 2009. Setting characteristics and cavity adaptation of low-shrinking resin composites. *Dent Mater*; 25:1509–1516.

- Park J, Chang J, Ferracane J, & Lee IB, 2008. How should composite be layered to reduce shrinkage stress: incremental or bulk filling? *Dent Mater*; 24: 1501-1505.
- Peutzfeldt A, Asmussen E, 2004. Determinants of in vitro gap formation of resin composites. *J Dent*; 32:109-15.
- Raskin A, Tassery H, D'Hoore W, Gonthier S, Vreven J, et al., 2003. Influence of the number of sections on reliability of in vitro microleakage evaluations. *American J Dent*; 16:207–210.
- Rominu M, Manescu A, Sinescu C, Negrutiu ML, Topala F, et al., 2014. Zirconia enriched dental adhesive: 134 A solution for OCT contrast enhancement. Demonstrative study by synchrotron radiation microtomography. *Dent Mater J*; 30:417–23.
- Rosatto CMP, Bicalho AA, Veríssimo C, Bragança GF, Rodrigues MP et al., 2015. Mechanical properties, shrinkage stress, cuspal strain and fracture resistance of molars restored with bulk-fill composites and incremental filling technique. *J Dent*; 43:1519–1528.
- Sadr A, Shimada Y, Mayoral JR, Hariri I, Bakhsh TA, et al., 2011. Swept source optical coherence tomography for quantitative and qualitative assessment of dental composite restorations. *Proc SPIE*; 7884:78840C.
- Sampaio CS, Chiu KJ, Farrokhtmanesh E, Janal M, Puppini-Rontani RM, et al., 2017. Microcomputed tomography evaluation of polymerization shrinkage of class I flowable resin composite restorations. *Oper Dent*; 42:E16–23.
- Santini A, Miletic V, Swift MD, Bradley M, 2013. Degree of conversion and microhardness of TPO-containing resin-based composites cured by polywave and monowave LED units. *Dent Mater*; 29:213–217.

- Sarrett D C, 2005. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent.Mater*; 21,9–20.
- Shawkat E S, Shortall A C, Addison O, and Palin W M, 2009. Oxygen inhibition and incremental layer bond strengths of resin composites. *Dent Mater*; 25, 1338–1346.
- Son SA, Park JK, Seo DG, Ko CC, Kwon YH, 2017. How lightattenuation and filler content affect the microhardness andpolymerization shrinkage and translucency of bulk-fillcomposites? *Clin Oral Investig*; 21:559–65.
- Spoto G, 2013. *Materiali e tecnologie odontostomatologiche. II*. Carimate (CO): Ariesdue s.r.l.
- Sun J, Eidelman N, Lin-Gibson S, 2009. 3D mapping of polymerization shrinkage using X-ray micro-computed tomography to predict microleakage. *Dent*; 25:314–320.
- Sun J, Fang R, Lin N, Eidelman N, Lin-Gibson S. 2009. Nondestructive quantification of leakage at the tooth – composite interface and its correlation with material performance parameters. *Biomaterials*; 30:4457–4462.
- Tauböck T T, Feilzer A J, Buchalla W, Kleverlaan C J, Krejci I, et al., 2014. Effect of modulated photo-activation on polymerization shrinkage behavior of dental restorative resin composites. *Eur J Oral Sci*; 122, 293–302.
- Tay FR, Suh BI, Pashley DH, Prati C, Chuang SF, et al., 2003. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adesive and self-cured or dual-cured composites. part II. single-bottle, totaletch adhesive. *J Adhes Dent*; 5:91-105.
- Uno S, Tanaka T, Inoue S, Sano H, 1999. The influence ofconfiguration factors on cavity adaptation in compomerrestorations. *Dent Mater J*; 18:19–31.
- Van Ende A ,Mine A ,DeMunck J ,Poitevin A and Van Meerbeek B, 2012. Bonding of low-shrinking composites in high C-factor cavities. *J.Dent*; 40, 295–303.

- Van Ende A, De Munck J, Lise DP, Van Meerbeek B, 2017. Bulk-fill composites: a review of the current literature. *J Adhes Dent*; 19: 95-110.
- Van Ende A, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Peumans M, et al., 2013. Bulk-filling of high C-factor posterior cavities: effect on adhesion to cavity-bottom dentin. *Dent Mater*; 29:269–77.
- Wagle M, D'Antonio F, Reiherth E, Basnet P, Trovik TA, 2018. Dental caries and preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*; 8:e018556.
- Wang Z, Chiang MY, 2016. Correlation between polymerization shrinkage stress and C-factor depends upon cavity compliance. *Dent Mater*; 32:343–52.

9.MATERIALE SUPPLEMENTARE

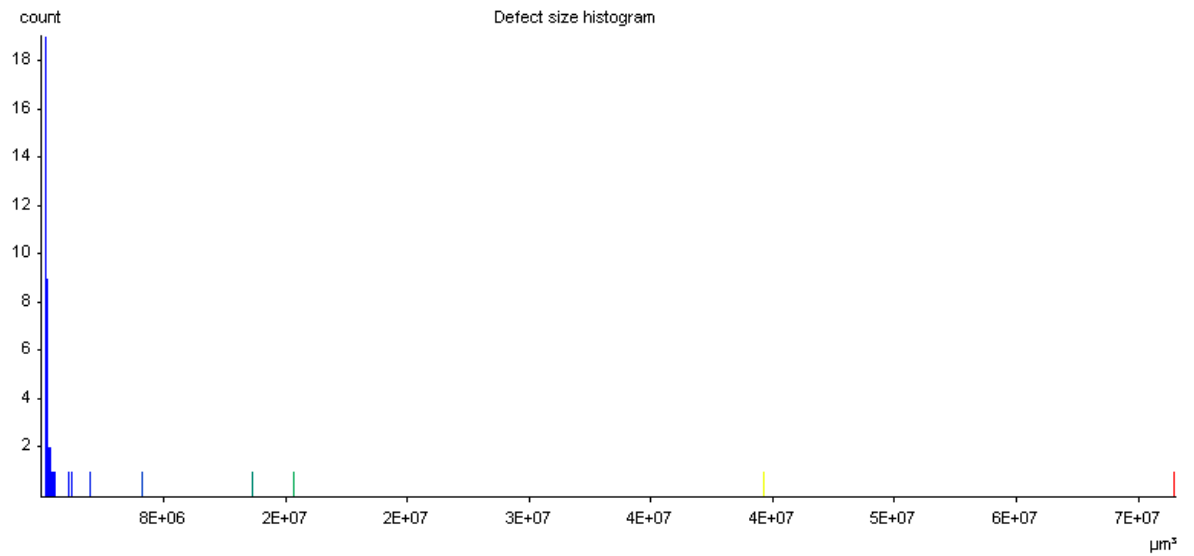


Figura 29: Istogramma che presenta la distribuzione volumetrica dei difetti di BG1.

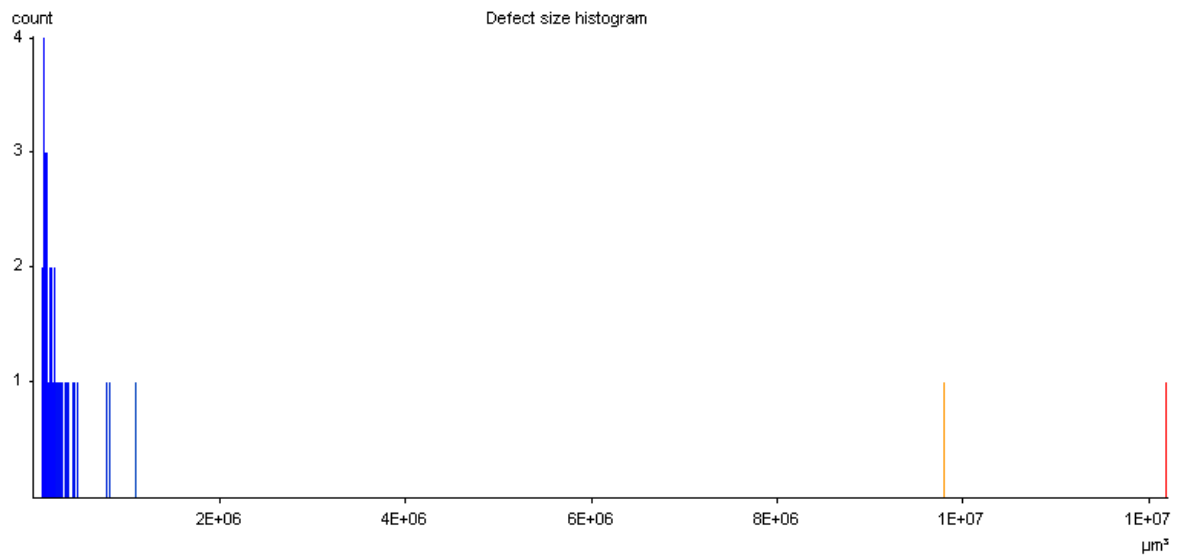


Figura 30: Istogramma che presenta la distribuzione volumetrica dei difetti di BG2.

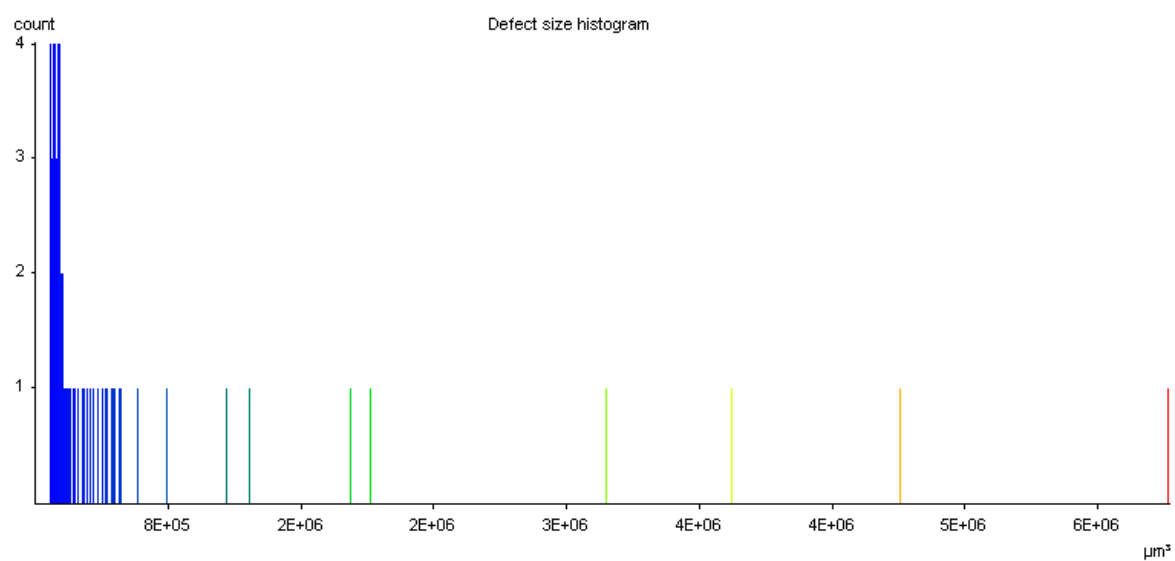


Figura 31: Istogramma che presenta la distribuzione volumetrica dei difetti di BG3.

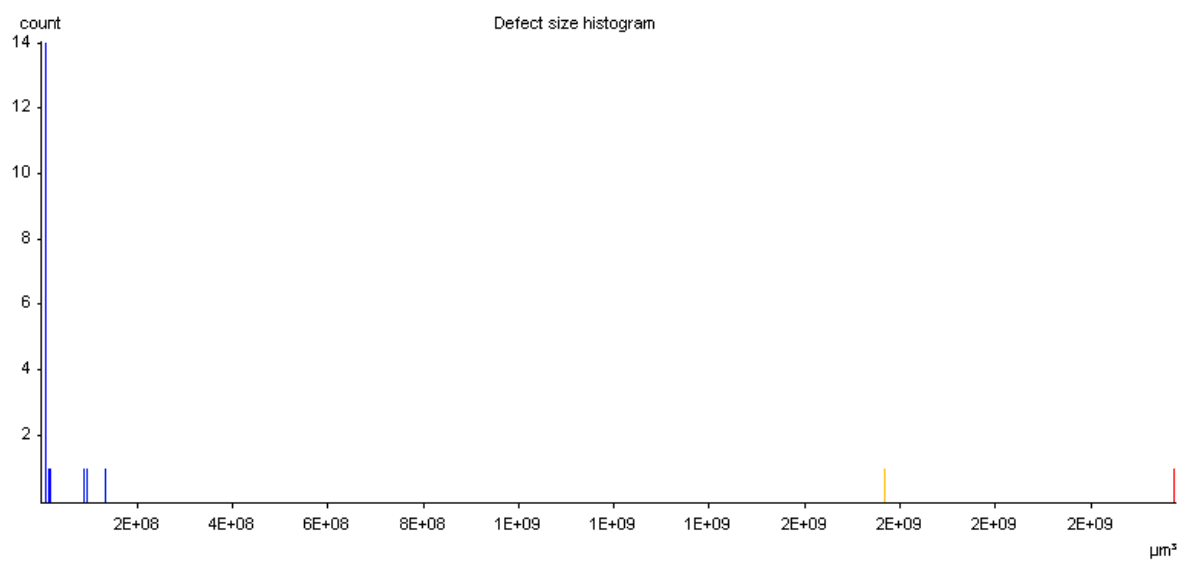


Figura 32: Istogramma che presenta la distribuzione volumetrica dei difetti di BT1.

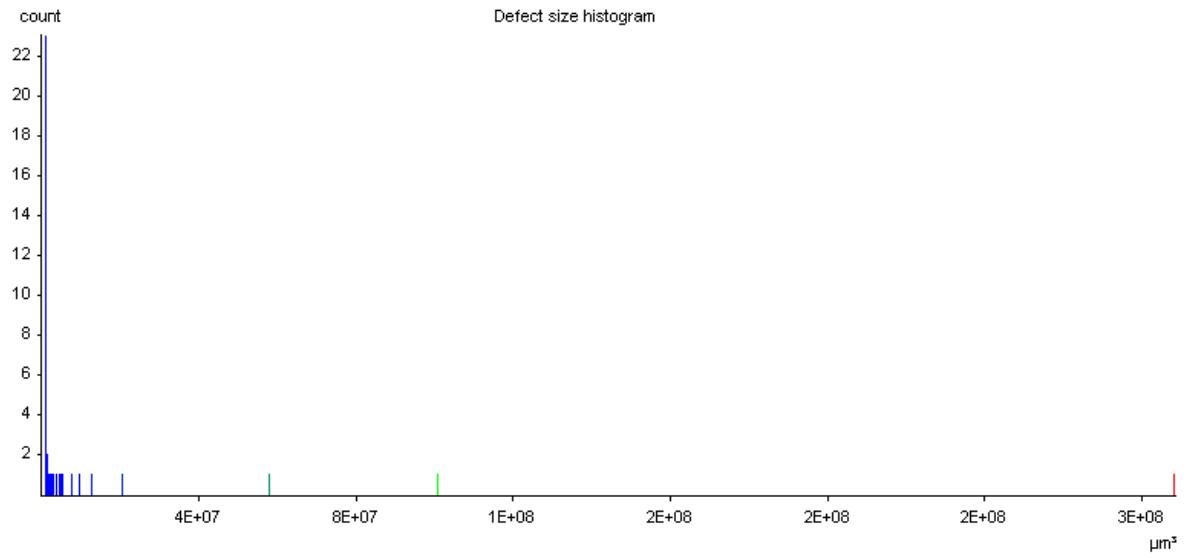


Figura 33: Istogramma che presenta la distribuzione volumetrica dei difetti di BT2.

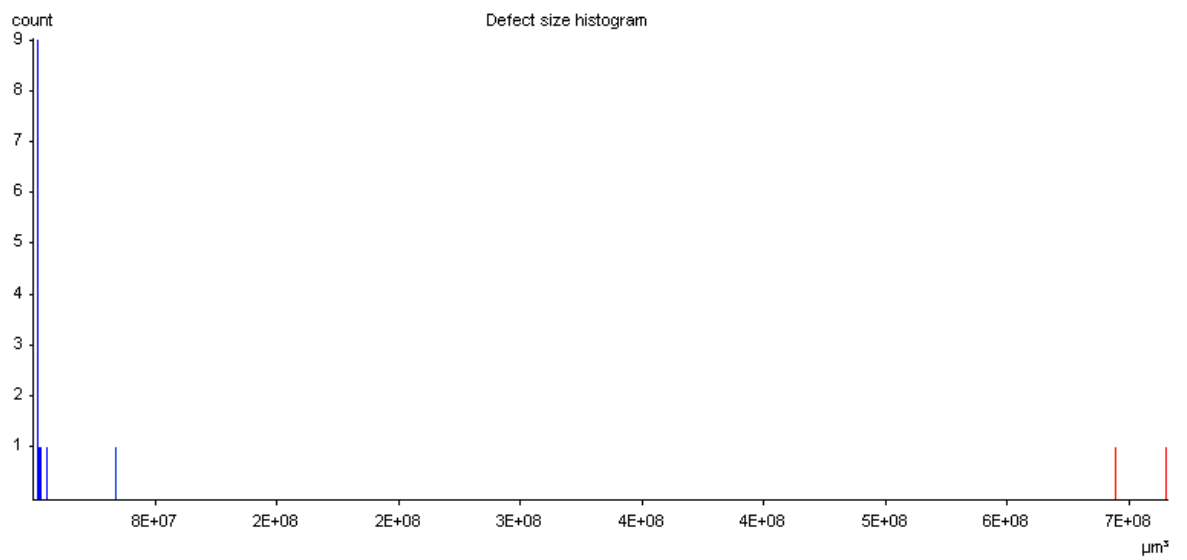


Figure 34: Istogramma che presenta la distribuzione volumetrica dei difetti di BT3.

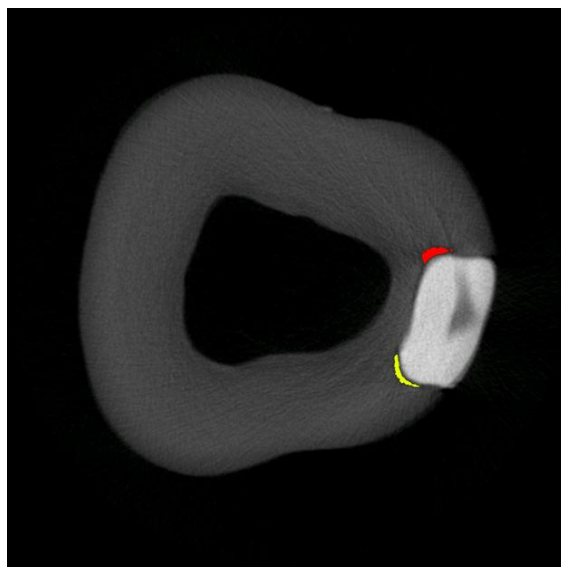


Figura 34: Immagine ottenute mediante μ -CT. Ricostruzione 3D del campione BG1.

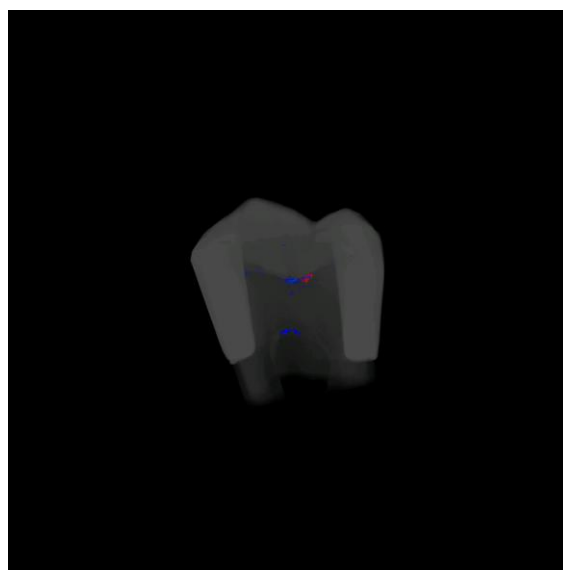
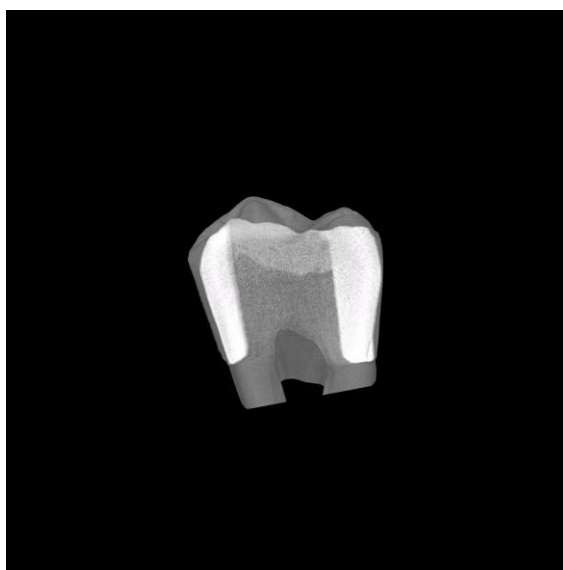


Figure 35,36: Immagini ottenute mediante μ -CT. Ricostruzioni 3D del campione BG2.

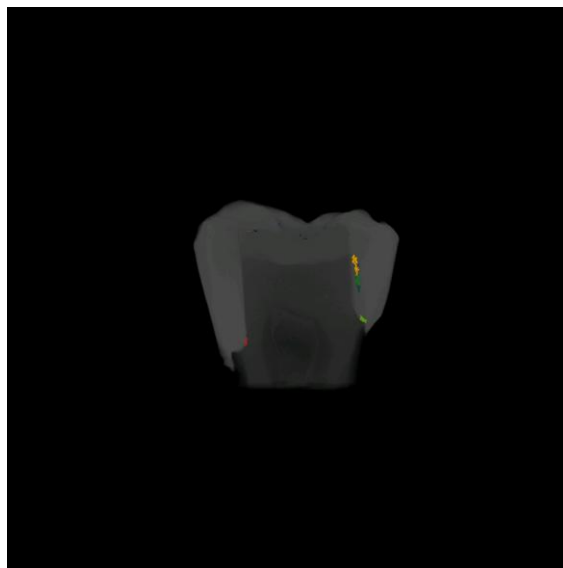
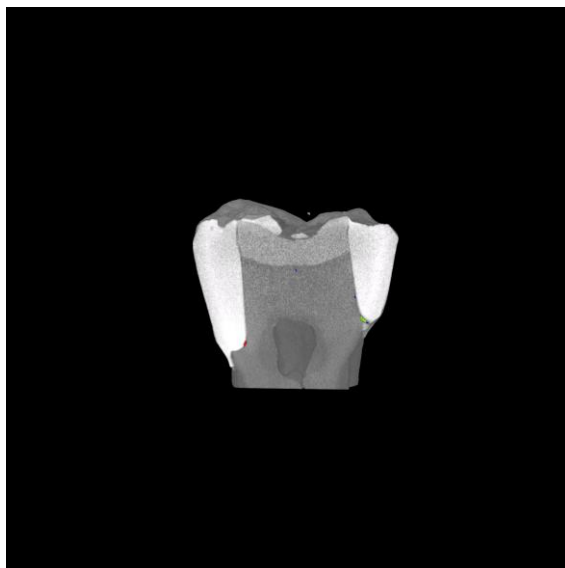


Figure 37,38: Immagini ottenute mediante μ -CT. Ricostruzioni 3D del campione BG3

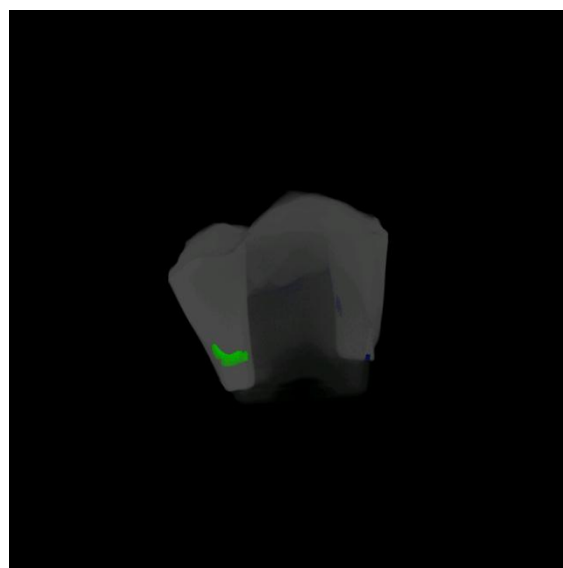
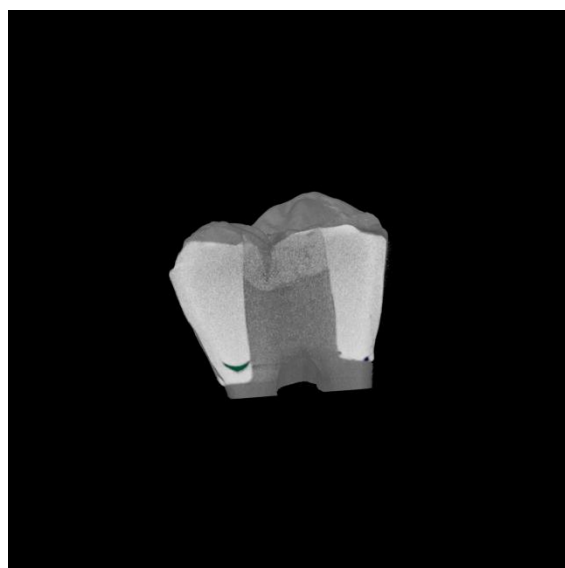


Figure 39,40 Immagini ottenute mediante μ -CT. Ricostruzioni 3D del campione BT2.

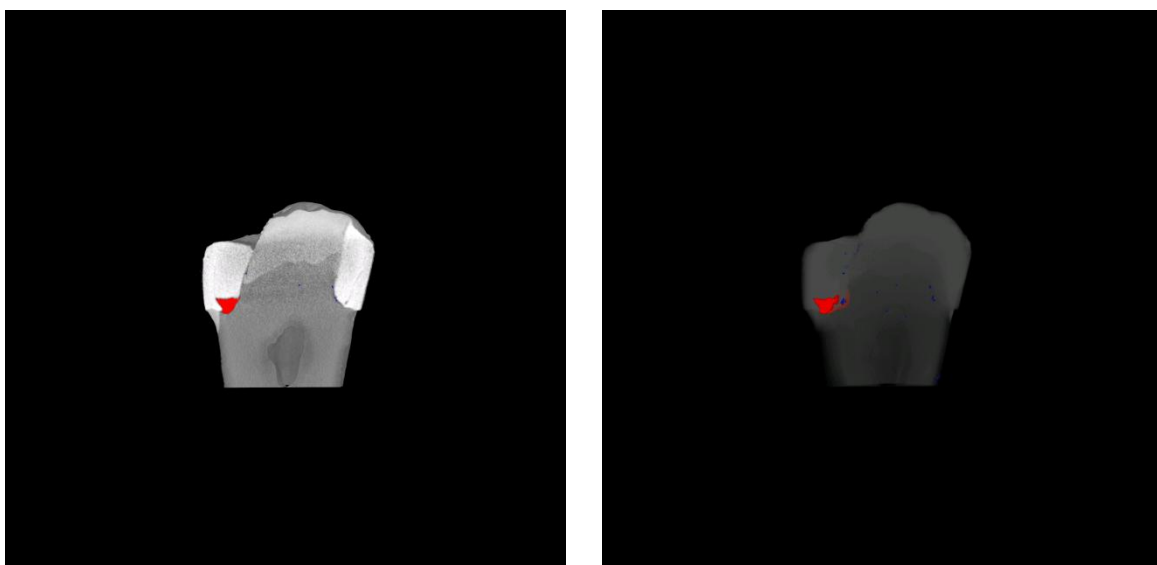


Figure 40,41 Immagini ottenute mediante μ -CT. Ricostruzioni 3D del campione BT3.

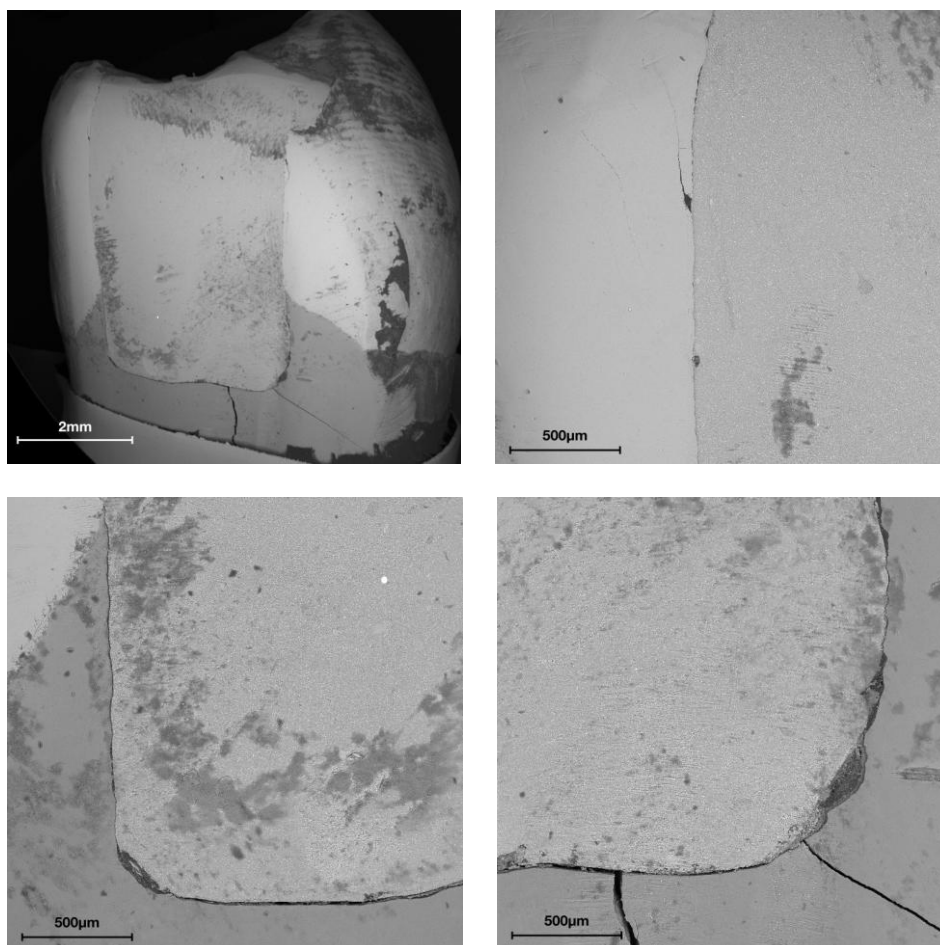


Figure 42,43,44,45: Le micrografie mostrano la superficie prossimale a diversi ingrandimenti del campione BG2.

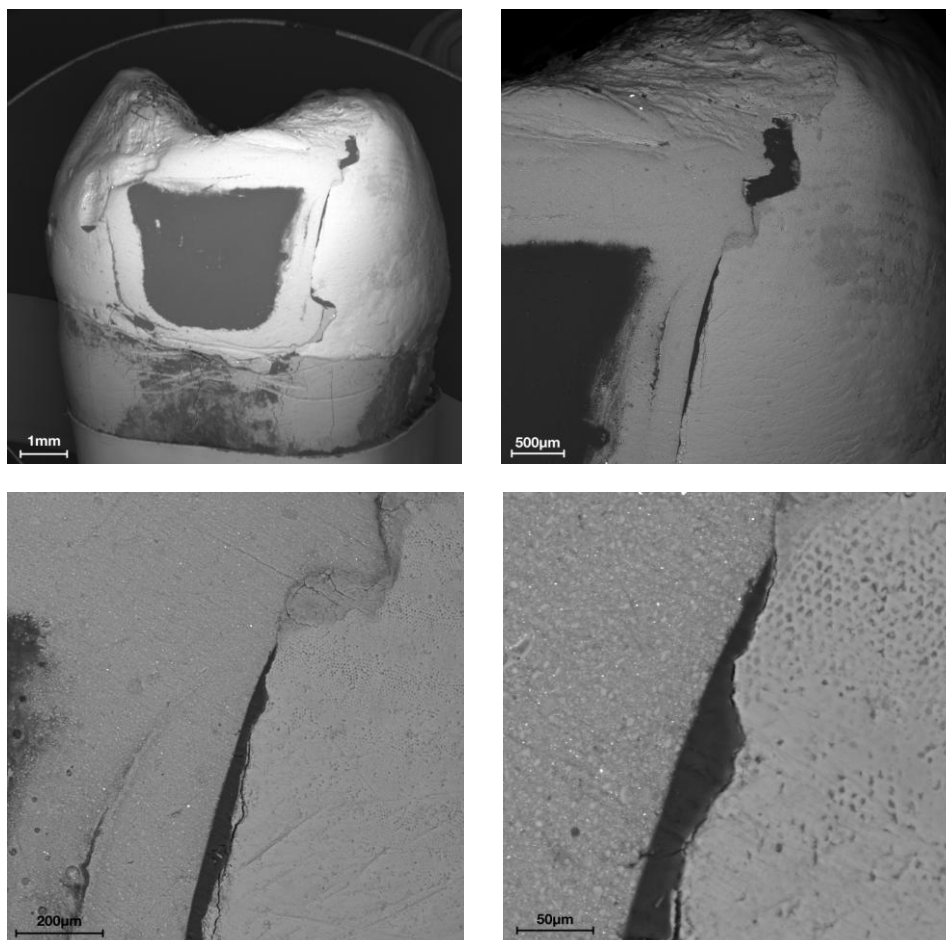
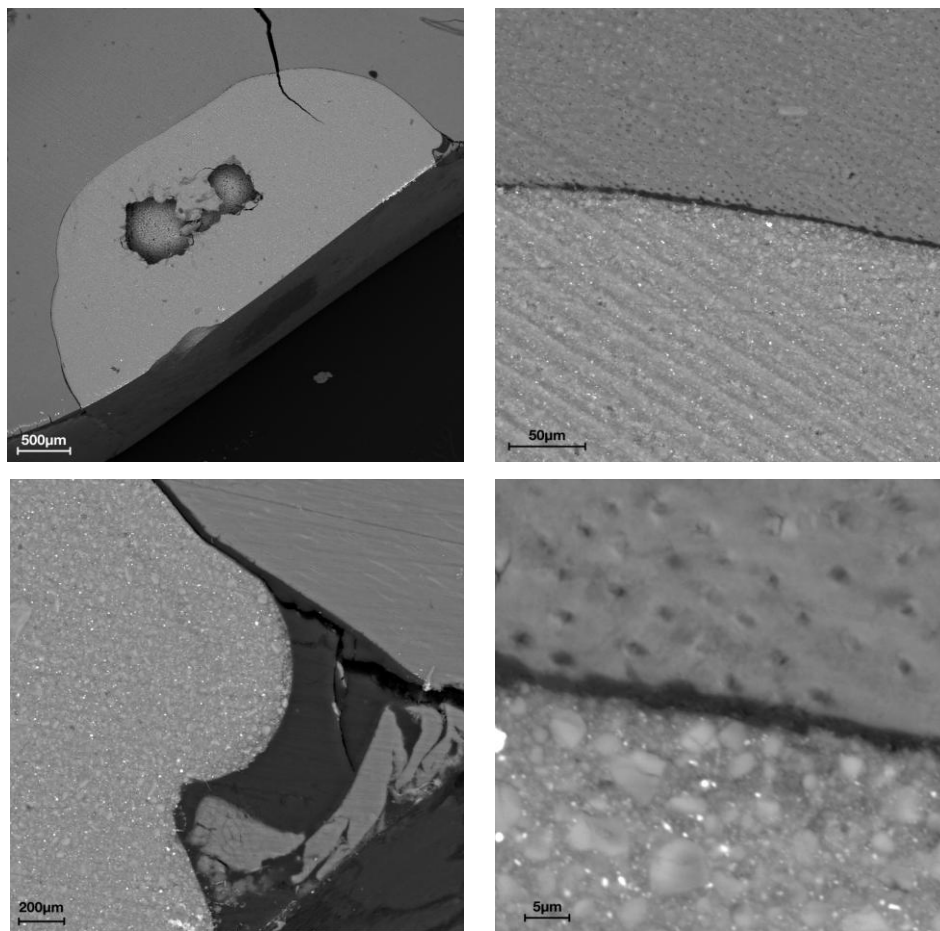


Figure 46,47,48,49: Le micrografie mostrano la superficie prossimale a diversi ingrandimenti del campione BT2.



1

figure 50,51,52,53: Le micrografie mostrano la superficie del taglio assiale del dente a diversi ingrandimenti del campione BT2.