

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 10/02/2021.

Danila de Oliveira

Influência de laminados cerâmicos cimentados sobre dentes naturais sem término cervical na microbiota do fluido gengival crevicular. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real

Araçatuba – SP

2020

Danila de Oliveira

Influência de laminados cerâmicos cimentados sobre dentes naturais sem término cervical na microbiota do fluido gengival crevicular. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba — UNESP, para a obtenção do Grau de "Mestre em Odontologia" (Área de concentração em Prótese Dentária).

Orientador: Prof. Associado Eduardo Passos Rocha
Co-orientadora: Prof^ª. Titular Sandra H. P. de Oliveira
Co-orientadora: Prof^ª. Associada Cristiane Duque

Araçatuba – SP

2020

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

O48i Oliveira, Danila de.
Influência de laminados cerâmicos cimentados sobre dentes naturais sem término cervical na microbiota do fluido gengival crevicular : estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real / Danila de Oliveira. - Araçatuba, 2020
81 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba

Orientador: Prof. Eduardo Passos Rocha

Coorientadora: Profa. Sandra Helena Penha de Oliveira

Coorientadora: Profa. Cristiane Duque

1. Ensaio clínico 2. Facetas dentárias 3. Líquido do sulco gengival 4. Bactérias I. T.

Black D3

CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedicatória

Dedico esta conquista aos meus amados pais, **Roberto** e **Marly**, aos meus verdadeiros amigos e irmãos, **Kleber** e **Thiago**; e aos meus queridos sobrinhos **Guilherme, Lucas, Clara e Samuel**.

Agradeço a Deus pela união da nossa família e sou muito grata a vocês por todo o cuidado, proteção, apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Obrigada, meus amados pais, por sempre buscarem oferecer o melhor para nós! Família, vocês foram fundamentais em cada etapa desta caminhada e esta vitória é nossa! Muito obrigada por tudo! Meu amor por vocês é infinito!

Agradecimentos Especiais

Agradeço a **Deus** que sempre esteve presente na minha vida, guiando e abençoando todos os meus passos.

Agradeço, em especial, ao amor da minha vida, **Pedro Henrique**, que é o meu porto seguro e companheiro de vida. Muito obrigada pelo amor, carinho, incentivo, suporte, ensinamentos e, principalmente, pela paciência nos meus momentos de desesperos e angústias. Muito obrigada por pensar sempre em nós em cada detalhe da nossa rotina. Sou muito grata a Deus por ter colocado você no meu caminho. Te amo, Lindo!

Agradeço ao meu orientador, **Prof. Eduardo Passos Rocha**, por todas as oportunidades na área acadêmica e por compartilhar conosco sua ampla experiência clínica. Agradeço, também, pela confiança depositada em mim desde a iniciação científica e pela imensa honestidade e seriedade com as quais sempre conduziu todos os nossos afazeres da pós-graduação. Espero poder continuar aprendendo muito mais com o senhor. Tenho muito orgulho em ser sua orientada e tenho certeza que amadureci muito nesses últimos anos. Muito obrigada por tudo!

Agradeço à minha co-orientadora, **Profa. Cristiane Duque**, que prontamente me recebeu em seu laboratório e com muita paciência me ensinou e me guiou nas etapas laboratoriais desta pesquisa. Foi extremamente proveitoso todos os dias em seu laboratório. A senhora é um grande exemplo de pessoa, professora e pesquisadora! Te admiro muito! Muito obrigada por tudo!

Agradeço à minha co-orientadora, **Profa. Sandra Helena Penha de Oliveira**, que muito nos ajudou no delineamento das pesquisas da nossa equipe, na busca de recursos financeiros e em diversas etapas laboratoriais. Muito obrigada pelo suporte e por podermos contar sempre com a senhora!

Agradeço imensamente à minha “mãe da Pesquisa” e querida amiga, **Profa. Roberta Okamoto**, a qual eu serei eternamente grata por todo o acolhimento quando eu comecei a graduação em 2012 e por todo o carinho, conselhos, paciência, bondade, ensinamentos e oportunidades durante toda a minha graduação e o curso de mestrado. Obrigada por sempre disponibilizar um tempinho da sua agenda cheia de compromissos para me ouvir e me aconselhar. A minha paixão pela área acadêmica é, em grande parte, por ter a senhora como o meu exemplo! Muito obrigada e conte sempre comigo!

Agradeço ao meu amigo e hoje professor, **Prof. Fernando Isquierdo de Souza**, que me aconselhou e ajudou em decisões muito importantes da minha vida. Obrigada por toda a paciência e todos os ensinamentos!

Agradeço à grande amiga e companheira que a pós-graduação me presenteou, **Mariana Caixeta**, pois juntas vivenciamos intensamente os bons e os maus momentos dessa caminhada. Muito obrigada por ser meu ombro-amigo e parceira em todas as atividades da pós-graduação. Te admiro e conte sempre comigo!

Agradeço à aluna de iniciação científica da nossa equipe, **Maria Clara**, por toda a disponibilidade e ajuda no desenvolvimento desta e outras pesquisas. Muito obrigada por tudo!

Agradecimentos

Agradeço à **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, na pessoa do Ilmo. diretor **Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara** pela oportunidade da realização do curso de Mestrado. A cada dia admiro mais esta universidade e agradeço por todas as oportunidades que esta casa me forneceu no decorrer do curso de graduação e pós-graduação.

Agradeço ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”** na pessoa do coordenador **Prof. André Luís Fraga Briso**.

Agradeço aos funcionários da seção técnica de Pós-graduação (**Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto, Lilian Sayuri Mada e Cristiane Regina Lui Matos**) pela disponibilidade, atenção e paciência em todas as etapas do mestrado.

Agradeço aos funcionários da **Biblioteca “Prof. Honório Monteiro”**, pela prontidão em nos ajudar.

Agradeço aos professores do **Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese**, em especial aos Professores **Paulo Henrique dos Santos e Wirley Gonçalves Assunção**, por todos os ensinamentos nas clínicas e seminários da Pós-Graduação.

Agradeço ao **Prof. Rodolfo Anchieta Bruniera**, que esteve presente em momentos importantes do curso de mestrado. Você é um exemplo para todos nós!

Agradeço ao **Prof. Estevam Augusto Bonfante** pelo aceite em participar da banca examinadora da minha defesa de dissertação e através disso contribuir com o seu amplo conhecimento na área para a finalização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos!

Agradeço com muito carinho aos Professores e aos colegas do **Departamento de Ciências Básicas** por deixarem as portas abertas para mim. Este departamento foi a minha segunda casa durante toda a graduação e nele compartilhamos momentos muito especiais. Minha eterna gratidão a vocês!

Agradeço ao **Prof. Rafael Nóbrega Stipp** pela disponibilidade em sanar dúvidas importantes relacionadas à biologia molecular deste trabalho. Muito obrigada!

Agradeço aos funcionários do **Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese**. Muito obrigada pela amizade e ajuda.

Agradeço imensamente à doutoranda da Periodontia, **Marina Módulo**, que se disponibilizou em me ensinar e ajudar nas etapas laboratoriais deste estudo. Você foi fundamental no meu processo de aprendizagem de biologia molecular. Te admiro pelo exemplo de pessoa e profissional que você é. Muito obrigada! Conte sempre comigo!

Agradeço à **Natália Colombo** que me ensinou a usar os equipamentos de biologia molecular. Muito obrigada por ter dedicado parte da sua intensa rotina para me auxiliar!

Agradeço aos **colegas e amigos da graduação e Pós-Graduação** das diferentes áreas de concentração. Muito obrigada por todos os momentos de alegria, descontração e conhecimento compartilhados.

Agradeço com muito carinho aos alunos **Karina, Rafaela, Vanessa, Amanda e Jesse** do laboratório de Cultura de Células e orientados pela Profa. Cristiane Duque. Muito obrigada pela disponibilidade, paciência e ajuda nos dias de laboratório. A equipe de vocês é incrível e foi muito proveitoso compartilhar os dias de laboratório com vocês. Contem sempre comigo!

Agradeço aos alunos **Aline, Sabrina, Ayná, Bianca e José** do laboratório de Farmacologia e orientados pela Profa. Sandra H. P. De Oliveira. Muito obrigada por todo o suporte!

Agradeço aos funcionários da Seção Técnica de Apoio ao Ensino e Pesquisa – STAEP, na pessoa do Assistente de Suporte Acadêmico **Samuel Aparecido Patim**, pela atenção dispensada na solicitação das clínicas para o atendimento nessa pesquisa.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB / USP, em especial à disciplina de **Endodontia**, nas pessoas dos Professores **Rodrigo Ricci Vivan e Clóvis Monteiro Bramante**, e do técnico **Edimauro de Andrade**, pela cordialidade e

prontidão na gentileza de colaborar na realização das primeiras imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Agradeço à Faculdade de Ciências da UNESP do Campus de Bauru – Departamento de Física, na pessoa da aluna **Bruna Costa**, que gentilmente se prontificou a colaborar com a obtenção das imagens no Microscópio Eletrônico de Varredura.

Agradeço imensamente a todos os **pacientes** pela credibilidade e confiança depositadas em nossa equipe, permitindo-nos a realização deste e outros estudos clínicos.

Agradeço à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - código de financiamento 001**, pela concessão da Bolsa de Mestrado durante os seis primeiros meses do curso. Meus sinceros agradecimentos por promover o apoio financeiro e com isso, permitir que fosse possível a realização do Mestrado.

Agradeço à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da Bolsa de Mestrado (**Processo #2017/27188-0**) e pelo Auxílio Regular em Pesquisa concedido à nossa equipe em nome do Professor Eduardo Passos Rocha (**Processo #2017/24776-9**), indispensável para a realização deste estudo.

*“Um dia, quando olhares para trás, verás que os dias mais belos foram
aqueles em que lutaste”*

Sigmund Freud

De Oliveira D. Influência de laminados cerâmicos cimentados sobre dentes naturais sem término cervical na microbiota do fluido gengival crevicular. Estudo clínico, prospectivo e longitudinal usando PCR em tempo real [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2020.

Resumo

Objetivo: quantificar bactérias colonizadoras do sulco gengival em paralelo à verificação do comportamento clínico periodontal e da adaptação marginal de laminados cerâmicos cimentados sobre dentes sem término cervical. **Métodos:** 73 laminados cerâmicos em dissilicato de lítio monolítico foram cimentados sobre dentes naturais sem término cervical e com a margem cervical posicionada cerca de 0,5mm no interior do sulco gengival. Para todos os dentes foi feita a coleta do fluido gengival crevicular (FGC) previamente à cimentação da restauração (baseline) e em 7, 180 e 365 dias após a cimentação para quantificação das bactérias *S. mitis*, *P. intermedia* e *P. gingivalis* através de PCR em tempo real. Clinicamente foram avaliados os parâmetros índice de placa visível (IPV), sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS), perda de inserção clínica (PIC), recessão gengival (RG) e a adaptação marginal da restauração em baseline, 7, 15, 30, 60, 180 e 365 dias. Foram obtidas réplicas da região cervical para análise da adaptação marginal por microscopia eletrônica de varredura (MEV). **Resultados:** Não houve diferença estatisticamente significativa para o IPV, PS, SS em todos os períodos analisados (Anova, $p>0,05$). Não houve registro de PIC e RG. Houve diferença estatisticamente significativa para *S. mitis* na comparação entre 180 e 365 dias (Dunn, $p=0,03$). Não foi detectado *P. intermedia* em nenhum dos sítios e não houve diferença estatisticamente significativa para *P. gingivalis* em todos os tempos do estudo (Friedman, $p>0,05$). Todas as restaurações receberam o conceito *alfa* para a adaptação marginal nas análises clínica e microscópica. **Conclusões:** o sobrecontorno causado pelo laminado cerâmico não contribuiu para o acúmulo de placa na região cervical e para alterações no comportamento clínico periodontal, microbiológico e microscópico em relação aos mesmos dentes antes do tratamento restaurador.

Palavras-chave: Ensaio clínico; Facetas dentárias; Líquido do sulco gengival; Bactérias.

De Oliveira D. Influence of laminate veneers cemented over natural teeth without finish line on the microbiota of gingival crevicular fluid. Clinical, prospective and longitudinal study using real-time PCR [dissertation]. Araçatuba: UNESP - São Paulo State University; 2020.

Abstract

Purpose: quantify colonizing bacteria of the gingival sulcus, in parallel to the verify of the periodontal clinical behavior and the marginal adaptation of natural teeth restored with ceramic veneers without finish line. **Methods:** 73 ceramic veneers in monolithic lithium disilicate were cemented onto natural teeth without finish line and with the cervical margin positioned about 0.5mm inside the gingival sulcus. Gingival crevicular fluid (GCF) was collected for all teeth prior to cementation of the restoration (baseline) and 7, 180 and 365 days after cementation to quantify the bacteria *S. mitis*, *P. intermedia* and *P. gingivalis* through of real-time PCR. Clinically, visible plaque index (PIV), bleeding on probing (BOP), probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), gingival recession (GR) and marginal adaptation were evaluated at baseline, 7, 15, 30, 60, 180 and 365 days. Replicas of the cervical region were obtained for analysis of marginal adaptation by scanning electron microscopy (SEM). **Results:** There was no statistically significant difference for PIV, PD, BOP in all periods analyzed (Anova, $p>0.05$). There were no records of CAL and RG. There was a statistically significant difference for *S. mitis* in the comparison between 180 and 365 days (Dunn, $p=0.03$). *P. intermedia* was not detected in any of the analyzed samples. There was no statistically significant difference for *P. gingivalis* at all study times (Friedman, $p>0.05$). All restorations had an alpha concept for marginal adaptation in clinical and SEM analysis. **Conclusions:** the overcontouring caused by ceramic veneers did not contribute to the accumulation of plaque in the cervical region and to changes in the clinical, microbiological and microscopic behavior in relation to the same teeth before the restorative treatment.

Keywords: Clinical trial;Dental veneers; Gingival crevicular fluid; Bacteria.

Lista de figuras

Figura 1. Imagem representativa dos casos executados. A: caso inicial. B: caso após o preparo parcial, sem a realização de desgaste da região cervical.....	48
Figura 2. Fluxograma do CONSORT.....	48
Figura 3. Imagem representativa da microscopia eletrônica de varredura (MEV) da margem cervical da restauração em 180 dias de acompanhamento.....	49

Lista de tabelas

Tabela 1. Dados clínicos dos grupos experimentais.....	44
Tabela 2. Tempos de estudo e análises realizadas em cada tempo.....	44
Tabela 3. Critérios de avaliação clínica e microscópica para a adaptação marginal da restauração cerâmica (USPHS modificado).....	45
Tabela 4. Espécies bacterianas, primers, tamanho do amplicon (bp) e condições térmicas usados no PCR em tempo real.....	46
Tabela 5. Avaliação clínica nos grupos controle (baseline) e restaurado (7, 15, 30, 60, 180 e 365 dias após a cimentação das restaurações); média ± desvio padrão.....	47
Tabela 6. Quantidade de microorganismos (ng/uL) obtido pelo qPCR; média ± desvio padrão.....	47

Lista de abreviaturas

CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

IPV - Índice de placa visível

MEV - Microscópio eletrônico de varredura

mm - milímetros

mW/cm² - miliwatts por centímetro quadrado

n - número de dentes

ng - nanograma

ng/uL - nanograma por microlitro

nm - nanômetros

qPCR - PCR em tempo real

PIC - Perda de inserção clínica

PS - Profundidade de sondagem

RG - Recessão gengival

SS - Sangramento à sondagem

UNESP - Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”

USPHS - United States Public Health Service

uL - Microlitro

°C - graus Célsius

Sumário

1. Introdução	17
2. Materiais e Métodos	20
2.1 Critérios de inclusão e exclusão.....	21
2.2 Seleção dos pacientes.....	21
2.3 Grupos e tempos de estudo.....	22
2.4 Procedimentos clínicos para a execução do estudo.....	23
2.4.1 Consulta inicial.....	23
2.4.2 Preparo dental.....	23
2.4.3 Prova e ajuste da restauração cerâmica.....	24
2.4.4 Condicionamento da superfície cerâmica.....	25
2.4.5 Condicionamento dental.....	25
2.4.6 Cimentação das restaurações cerâmicas.....	25
2.5 Análises clínicas.....	26
2.6 Avaliação microbiológica através de PCR em tempo real.....	26
2.6.1 Coleta do fluido gengival crevicular.....	26
2.6.2 Extração do DNA.....	27
2.6.3 PCR em tempo real.....	27
2.7 Obtenção dos modelos de réplica.....	28
2.8 Análise estatística.....	28
3. Resultados	29

3.1 Análises clínicas.....	30
3.2 PCR em tempo real.....	30
3.3 Microscopia eletrônica de varredura.....	31
4. Discussão.....	32
5. Conclusões.	37
6. Referências bibliográficas.....	39
Anexos	
Anexo A - Parecer do comitê de Ética em Pesquisa.....	51
Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	55
Anexo C - Normas para publicação no periódico <i>Journal of Prosthodontic Research</i>	59
Anexo D - Fotos dos casos clínicos executados.....	73

Introdução

**Este trabalho foi formatado de acordo com as normas do periódico Journal of Prosthodontic Research*

1. Introdução

Os laminados cerâmicos têm sido amplamente utilizados na odontologia estética como uma opção de tratamento conservador e com taxas de sobrevivência de aproximadamente 90% após 20 anos de acompanhamento [1-4]. Neste sentido, com os constantes avanços na microestrutura das cerâmicas vítreas em conjunto com o aperfeiçoamento das técnicas adesivas de cimentação, é possível a preservação crescente do esmalte dentário como substrato de apoio, com consequente aumento da previsibilidade de sucesso mecânico da restauração e, possibilitando, inclusive, a utilização de restaurações cerâmicas delgadas cimentadas sobre dentes com mínimo ou nenhum desgaste dental [5-8]. Assim sendo, iniciou-se a utilização dos laminados cerâmicos extremamente delgados, também conhecidos por lentes de contato dental, para pequenas correções estéticas como: modificação de forma, fechamento de diastemas, pequenas alterações de cor, desalinhamentos dentais, fraturas coronárias de pequena extensão, espaços negros interdentais e desgastes por abrasão [9, 10].

Especificamente relacionado ao término cervical neste tipo de tratamento, quando o laminado cerâmico fabricado pela técnica da maquiagem é cimentado sobre um dente que não apresenta terminação cervical, um pequeno sobrecontorno cervical, com pelo menos 0,2mm de espessura se fará presente [9, 10]. Adicionalmente, na etapa de cimentação, podem ocorrer pequenas adaptações ou desajuste cervical da peça ao dente, não perceptíveis pelo clínico, e que podem aumentar o perfil de emergência do dente a partir do interior do sulco gengival [11].

O sucesso a longo prazo em tratamentos restauradores está diretamente relacionado com a manutenção da saúde periodontal [12, 13] e diversos autores afirmam que o sobrecontorno é prejudicial ao periodonto, pois pode contribuir para o acúmulo de biofilme na região cervical e, como consequência, causar alteração da microbiota local, desenvolver respostas inflamatórias, complicações periodontais e, em última análise, levar a perda do elemento dentário [14-17]. No entanto, na literatura existem relatos de casos clínicos que sugerem boa resposta do tecido periodontal de dentes com término

em lâmina de faca e restaurados com laminados cerâmicos [9, 18], mas sem estudos clínicos prospectivos e longitudinais sobre o assunto.

A fim de acompanhar o comportamento do periodonto neste tipo de tratamento, a avaliação clínica através da observação de inflamação gengival, profundidade de sondagem, presença de recessão gengival, perda de inserção clínica e exames radiográficos são eficazes para diagnosticar as possíveis alterações e complicações ocorridas em decorrência do tratamento, contudo, não fornecem informações sobre o início e o progresso da doença periodontal [14, 19, 20]. Levando em consideração que existem diversos microorganismos no fluido gengival crevicular e que é necessário o equilíbrio entre o parasita e o hospedeiro para a manutenção do estado de saúde [21, 22], a análise da microbiota antes e após a cimentação dos laminados cerâmicos permite verificar se o sobrecontorno dessas restaurações pode ser considerado como um fator de risco para o acúmulo de placa na região cervical e para a alteração da microbiota considerada normal para a microbiota característica de sítios com gengivite e / ou periodontite.

Desta maneira, o objetivo deste estudo clínico foi avaliar o comportamento prospectivo e longitudinal do periodonto de dentes sem término cervical e restaurados com laminados cerâmicos posicionados subgengival em comparação com os mesmos dentes antes do tratamento restaurador. O desfecho primário foi quantificar as bactérias *Streptococcus mitis*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis* no fluido gengival crevicular. Análises clínicas e por microscopia eletrônica de varredura também foram realizadas. As hipóteses nulas foram:

- (1) os dentes restaurados não apresentarão alteração nos parâmetros clínicos periodontais em relação aos mesmos dentes antes do tratamento, independente do tempo de análise;
- (2) os dentes restaurados não apresentarão alteração na microbiota em relação aos mesmos dentes antes do tratamento, independente do tempo de análise.

Referências

6. Referências

- [1] M.J. Friedman, A 15-year review of porcelain veneer failure--a clinician's observations, *Compendium of continuing education in dentistry* (Jamesburg, N.J. : 1995) 19(6) (1998) 625-8, 630, 632 passim; quiz 638.
- [2] M. Peumans, J. De Munck, S. Fieuws, P. Lambrechts, G. Vanherle, B. Van Meerbeek, A prospective ten-year clinical trial of porcelain veneers, *The journal of adhesive dentistry* 6(1) (2004) 65-76.
- [3] U.S. Beier, I. Kapferer, D. Burtscher, H. Dumfahrt, Clinical performance of porcelain laminate veneers for up to 20 years, *The International journal of prosthodontics* 25(1) (2012) 79-85.
- [4] D.M. Layton, T.R. Walton, The up to 21-year clinical outcome and survival of feldspathic porcelain veneers: accounting for clustering, *The International journal of prosthodontics* 25(6) (2012) 604-12.
- [5] A. Aykor, E. Ozel, Five-year clinical evaluation of 300 teeth restored with porcelain laminate veneers using total-etch and a modified self-etch adhesive system, *Operative dentistry* 34(5) (2009) 516-23.
- [6] P. Benetti, A. Della Bona, J.R. Kelly, Evaluation of thermal compatibility between core and veneer dental ceramics using shear bond strength test and contact angle measurement, *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 26(8) (2010) 743-50.
- [7] J.R. Kelly, P. Benetti, Ceramic materials in dentistry: historical evolution and current practice, *Australian dental journal* 56 Suppl 1 (2011) 84-96.
- [8] E. Ozturk, R. Hickel, S. Bolay, N. Ilie, Micromechanical properties of veneer luting resins after curing through ceramics, *Clinical oral investigations* 16(1) (2012) 139-46.
- [9] D. Cortellini, A. Canale, Bonding lithium disilicate ceramic to feather-edge tooth preparations: a minimally invasive treatment concept, *The journal of adhesive dentistry* 14(1) (2012) 7-10.
- [10] M.E. Miranda, K.A. Olivieri, F.J. Rigolin, R.T. Basting, Ceramic fragments and metal-free full crowns: a conservative esthetic option for closing diastemas and rehabilitating smiles, *Operative dentistry* 38(6) (2013) 567-71.
- [11] B.M. Coyne, N.H. Wilson, A clinical evaluation of the marginal adaptation of porcelain laminate veneers, *The European journal of prosthodontics and restorative dentistry* 3(2) (1994) 87-90.
- [12] C. D'Arcangelo, F. De Angelis, M. Vadini, M. D'Amario, Clinical evaluation on porcelain laminate veneers bonded with light-cured composite: results up to 7 years, *Clinical oral investigations* 16(4) (2012) 1071-9.
- [13] R. Arif, J.B. Dennison, D. Garcia, P. Yaman, Gingival Health of Porcelain Laminate Veneered Teeth: A Retrospective Assessment, *Operative dentistry* (2019).
- [14] N.P. Lang, R.A. Kiel, K. Anderhalden, Clinical and microbiological effects of subgingival restorations with overhanging or clinically perfect margins, *Journal of clinical periodontology* 10(6) (1983) 563-78.

- [15] S. Gracis, M. Fradeani, R. Celletti, G. Bracchetti, Biological integration of aesthetic restorations: factors influencing appearance and long-term success, *Periodontology* 2000 27 (2001) 29-44.
- [16] A. Padbury, Jr., R. Eber, H.L. Wang, Interactions between the gingiva and the margin of restorations, *Journal of clinical periodontology* 30(5) (2003) 379-85.
- [17] A.M. Al-Wahadni, Y. Mansour, Y. Khader, Periodontal response to all-ceramic crowns (IPS Empress) in general practice, *International journal of dental hygiene* 4(1) (2006) 41-6.
- [18] C. D'Arcangelo, M. Vadini, M. D'Amario, Z. Chiavaroli, F. De Angelis, Protocol for a new concept of no-prep ultrathin ceramic veneers, *Journal of esthetic and restorative dentistry : official publication of the American Academy of Esthetic Dentistry ... [et al.]* 30(3) (2018) 173-179.
- [19] N. Gilmore, A. Sheiham, Overhanging dental restorations and periodontal disease, *Journal of periodontology* 42(1) (1971) 8-12.
- [20] M. Schatzle, N.P. Land, A. Anerud, H. Boysen, W. Burgin, H. Loe, The influence of margins of restorations of the periodontal tissues over 26 years, *Journal of clinical periodontology* 28(1) (2001) 57-64.
- [21] J.A. Aas, B.J. Paster, L.N. Stokes, I. Olsen, F.E. Dewhirst, Defining the normal bacterial flora of the oral cavity, *Journal of clinical microbiology* 43(11) (2005) 5721-32.
- [22] A.W. Aruni, Y. Dou, A. Mishra, H.M. Fletcher, The Biofilm Community-Rebels with a Cause, *Current oral health reports* 2(1) (2015) 48-56.
- [23] J.G. Caton, G. Armitage, T. Berglundh, I.L.C. Chapple, S. Jepsen, K.S. Kornman, B.L. Mealey, P.N. Papapanou, M. Sanz, M.S. Tonetti, A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification, *Journal of periodontology* 89 Suppl 1 (2018) S1-s8.
- [24] D. Moher, S. Hopewell, K.F. Schulz, V. Montori, P.C. Gotzsche, P.J. Devereaux, D. Elbourne, M. Egger, D.G. Altman, CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials, *Journal of clinical epidemiology* 63(8) (2010) e1-37.
- [25] R.B. Anchietta, E.P. Rocha, E.O. de Almeida, A.C. Junior, A.P. Martini, Bonding all-ceramic restorations with two resins cement techniques: a clinical report of three-year follow-up, *European journal of dentistry* 5(4) (2011) 478-85.
- [26] G.J. Chiche, Double-string technique for final impressions--practical applications, *Dental economics - oral hygiene* 85(1) (1995) 72-3.
- [27] F. Murillo-Gomez, R.G. Palma-Dibb, M.F. De Goes, Effect of acid etching on tridimensional microstructure of etchable CAD/CAM materials, *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 34(6) (2018) 944-955.
- [28] J. Perdigao, Predictable cementation of esthetic restorations: part I--principles of adhesion, *Practical procedures & aesthetic dentistry : PPAD* 19(9) (2007) 1-6.
- [29] W.W. Barkmeier, R.L. Erickson, N.S. Kimmes, M.A. Latta, T.M. Wilwerding, Effect of enamel etching time on roughness and bond strength, *Operative dentistry* 34(2) (2009) 217-22.

- [30] M.M. Gresnigt, W. Kalk, M. Ozcan, Clinical longevity of ceramic laminate veneers bonded to teeth with and without existing composite restorations up to 40 months, *Clinical oral investigations* 17(3) (2013) 823-32.
- [31] J. Silness, H. Loe, PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. II. CORRELATION BETWEEN ORAL HYGIENE AND PERIODONTAL CONDITON, *Acta odontologica Scandinavica* 22 (1964) 121-35.
- [32] G.C. Armitage, The complete periodontal examination, *Periodontology* 2000 34 (2004) 22-33.
- [33] G.C. Armitage, Development of a classification system for periodontal diseases and conditions, *Annals of periodontology* 4(1) (1999) 1-6.
- [34] O. Ozgoren, H. Develioglu, G. Guncu, A. Akman, E. Berker, The adjunctive effect of tenoxicam during non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and gingival crevicular fluid levels of MMP-8 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis - randomized, double-blind clinical trial, *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University* 23(4) (2014) 559-65.
- [35] I. Bakri, C.W. Douglas, A. Rawlinson, The effects of stress on periodontal treatment: a longitudinal investigation using clinical and biological markers, *Journal of clinical periodontology* 40(10) (2013) 955-61.
- [36] J.S. Kinney, T. Morelli, M. Oh, T.M. Braun, C.A. Ramseier, J.V. Sugai, W.V. Giannobile, Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression, *Journal of clinical periodontology* 41(2) (2014) 113-120.
- [37] M.A. Nadkarni, F.E. Martin, N.A. Jacques, N. Hunter, Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set, *Microbiology (Reading, England)* 148(Pt 1) (2002) 257-66.
- [38] M. Peumans, B. Van Meerbeek, P. Lambrechts, M. Vuylsteke-Wauters, G. Vanherle, Five-year clinical performance of porcelain veneers, *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)* 29(4) (1998) 211-21.
- [39] S.S. Scherrer, J.B. Quinn, G.D. Quinn, H.W. Wiskott, Fractographic ceramic failure analysis using the replica technique, *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials* 23(11) (2007) 1397-404.
- [40] U. Lohbauer, G. Amberger, G.D. Quinn, S.S. Scherrer, Fractographic analysis of a dental zirconia framework: a case study on design issues, *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 3(8) (2010) 623-9.
- [41] S. Kourkouta, T.T. Walsh, L.G. Davis, The effect of porcelain laminate veneers on gingival health and bacterial plaque characteristics, *Journal of clinical periodontology* 21(9) (1994) 638-40.
- [42] F. Bremer, S. Grade, P. Kohorst, M. Stiesch, In vivo biofilm formation on different dental ceramics, *Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)* 42(7) (2011) 565-74.
- [43] G.A. Van der Weijden, C.J. Timmer, M.F. Timmerman, E. Reijerse, M.S. Mantel, U. van der Velden, The effect of herbal extracts in an experimental mouthrinse on established plaque and gingivitis, *Journal of clinical periodontology* 25(5) (1998) 399-403.

- [44] A.E. Duran-Pinedo, V.D. Baker, J. Frias-Lopez, The periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* induces expression of transposases and cell death of *Streptococcus mitis* in a biofilm model, *Infection and immunity* 82(8) (2014) 3374-82.
- [45] R.J. Lamont, H.F. Jenkinson, Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis*, *Oral microbiology and immunology* 15(6) (2000) 341-9.