



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

KEVIN HENRIQUE CRUZ

Caracterização do biofilme formado sobre cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, submetidas a diversos protocolos de polimento associados ou não a deposição de plasma de baixa temperatura e diferentes envelhecimentos *in vitro*

KEVIN HENRIQUE CRUZ

Caracterização do biofilme formado sobre cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, submetidas a diversos protocolos de polimento associados ou não a deposição de plasma de baixa temperatura e diferentes envelhecimentos *in vitro*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (Unesp), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de concentração em Prótese Dentária.

Orientador: Prof. Assoc. Aldiéris Alves Pesqueira.

Araçatuba – SP
2024

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C957c Cruz, Kevin Henrique.
Caracterização do biofilme formado sobre cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, submetidas a diversos protocolos de polimento associados ou não a deposição de plasma de baixa temperatura e diferentes envelhecimentos in vitro / Kevin Henrique Cruz. - Araçatuba, 2024
57 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientador: Prof. Aldiéris Alves Pesqueira

1. Cerâmica 2. Desenho assistido por computador 3. Técnicas microbiológicas 4. Gases em plasma I. T.

Black D3
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

A Deus,

Agradeço por essa conquista, tanto da minha vida profissional quanto pessoal. Obrigado por me guiar e orientar nesta jornada. O senhor esteve comigo a cada momento e sempre me deu forças para lidar com quaisquer situações em minha vida, nos momentos difíceis e nos momentos de alegria. Obrigado Deus, por sempre estar comigo.

A minha família,

A minha mãe Eliane de Fátima Pereira Cruz, a meu pai Otávio Cruz Júnior, a meu irmão Eduardo Henrique Cruz, a minha cunhada Brenda Júlia Pereira Varela, dedico a vocês essa etapa concluída em minha vida, essa conquista é nossa, sem o apoio de vocês nada seria possível. Obrigado por sempre estarem comigo, por sempre me acolherem e me acalmar nos momentos difíceis e também por compartilharem tantos momentos de alegria comigo, independente da distância nunca me deixaram sentir só. Obrigado por tudo, amo vocês família.

A todos os meus familiares e amigos,

também dedico a vocês, que sempre me apoiaram e não mediram esforços para me ajudar em todos os momentos, obrigado por sempre acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador,

Prof. Assoc. Aldiéris Alves Pesqueira, obrigado por todos os ensinamentos, pela confiança, pelo apoio e por sempre se fazer presente nesta jornada. Agradeço também pela paciência e comprometimento em me orientar durante estes anos, sem você nada disso seria possível. O senhor tem minha eterna gratidão professor, obrigado por acreditar em mim em momentos que eu mesmo não consegui.

Aos amigos de trabalho

Victor Alves Nascimento, agradeço pela amizade e pelo companheirismo desde o primeiro dia, entramos juntos e trilhamos este caminho unidos, sempre um pelo outro. Obrigado meu amigo, por tudo, você nunca mediu esforços para me ajudar, sou muito grato por ter te conhecido e por ter cultivado essa amizade, com certeza você tornou meus dias mais felizes. Conte sempre comigo

Lorena Scaion Silva, você ensinou a dar meus primeiros passos na pós graduação, obrigado por todos os ensinamentos e companheirismo durante esta etapa.

João Pedro Justino de Oliveira Limírio, o porto seguro de todos nós que passamos pela pós. João, agradeço por todos os conselhos e por todos os aprendizados que tive com você durante este tempo. Você sempre foi meu refúgio nos momentos de maior necessidade, obrigado por ter sempre me guiado e organizado, com certeza minha vida aqui foi mais leve aqui por sempre poder contar com você. Conte comigo sempre também meu amigo, obrigado por tudo.

Ana Beatriz de Souza Albergardi, minha dupla de pesquisa, desbravamos juntos novas metodologias e sem sua parceria nada seria possível. Admiro muito sua dedicação e comprometimento, só tenho a agradecer por todos os momentos que passamos juntos, independente do cansaço sempre foi muito compreensiva e companheira. Obrigado Bia, por toda ajuda e por sua amizade.

Isabela Dornelas Neves Mendonça, agradeço por todos os momentos que tivemos juntos, obrigado pela ajuda no desenvolvimento deste projeto e por todos os momentos de descontração, demos muitas risadas e nos divertimos muito. Muito obrigado por sempre ter sido solícita e companheira.

Gabriel Nunes Sampaio, obrigado por toda ajuda de sempre meu amigo, você sempre se mostrou muito dedicado e solícito sempre que precisei, só tenho a agradecer, tanto pela assistência nos projetos, quanto pela amizade.

Juliana Lujan Brunetto, agradeço por todos os conselhos, ensinamentos e por todos momentos que tivemos juntos, sempre foi muito bom conversar com você e poder me divertir em todos esses momentos. Muito obrigado Ju, por tudo.

Bruna Egumi Nagay, obrigado por toda ajuda na realização das análises microbiológicas, você sempre foi muito solícita nos momentos de dúvidas e me ensinou muito durante esse processo, agradeço pela paciência, dedicação e comprometimento.

Jesse Augusto Pereira, agradeço por todo aprendizado, pelos conselhos, dicas e dúvidas tiradas, você foi essencial para o desenvolvimento desse projeto. Muito obrigado por sempre ter sido tão solícito e companheiro em todos os momentos.

Aos meus amigos de departamento, Beatriz Marques, Marcos Gomes, Thiago Foltran, Lorena Louise, Hiskell Francine, e Ronise Piato, obrigado por toda ajuda sempre e por tornarem meus dias mais felizes.

À Banca Examinadora

Profa. Dra. Maria Cristina Rosifini Alves Rezende, agradeço por todos os momentos de acolhimento e compreensão, admiro muito você pelo seu profissionalismo, mas ainda mais pela sua humanidade. Obrigado professora por todo aprendizado e por ter aceito o convite em compor minha banca, foi uma honra para mim.

Profa. Dra. Jéssica Marcela de Luna Gomes, a qual não tive oportunidade de conviver muito tempo, no entanto, sempre foi muito prazeroso estar em sua companhia, obrigado por sempre ter sido tão atenciosa e solícita. Independente do tempo, tive oportunidade de aprender muito com você e também de me inspirar em você. Muito obrigado por ter aceitado meu convite, sua presença engrandece nosso trabalho.

Aos meus familiares, que me ensinaram coisas fundamentais, que nenhuma academia pode ensinar: fé em Deus, honestidade, ética e empatia. A distância contribui para a saudade e carência, mas sei que torcem por mim e sempre querem o meu bem. Amo muito vocês.

Aos meus amigos

Amanda Dias Castanheiro, obrigado por sempre estar comigo, em todos os momentos, fáceis ou difíceis, felizes ou tristes. Minha gratidão por ti é enorme, você fez meus dias mais leves, me deu os conselhos mais valiosos e sempre me apoiou em cada etapa. Amanda, com certeza você foi mais que minha amiga, foi minha irmã, sempre se preocupou comigo e nunca me deixou me abater, muito obrigado por ter sido sempre presente, por ter me apoiado e também por sempre estar ao meu lado.

Guilherme Melhado Magri, meu irmão, independente do tempo, da distância e de todos os empecilhos que poderiam nos afastar você nunca deixou de acreditar em mim, sou grato a ti, por ter me incentivado, e por sempre torcer por mim. Muito obrigado Gui, pela nossa amizade, e, mesmo de longe por sempre estar comigo.

Mayara Signori Dantas, agradeço a ti, por sempre estar comigo, nos mudamos para Araçatuba sem saber que estaríamos juntos aqui, quero que saiba que o que mais me tranquilizou foi saber que você estaria aqui comigo, você sempre cuidou de mim, me deu “puxões de orelha” quando precisava e sempre foi muito companheira. Obrigado, pela parceria e por sempre me fazer uma pessoa melhor.

Aos professores do departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, que me acolheram e me ensinam sempre o máximo, com maestria e perfeição. Todos são exemplos de profissionais que almejo ser um dia. Em especial, quero agradecer o convívio e sempre fraterno ganho de conhecimentos do **Prof. Assoc. Fellippo Ramos Verri, Profa. Dra. Karina Helga Túrcio, Profa. Assoc. Daniela Micheline, Profa. Dra. Aimée Guiotti, Prof. Assoc. Paulo Henrique dos Santos, Prof. Titular. Wirley Assunção, Prof. Dr. Paulo Renato Zuim, Profa. Dra. Débora Barros Barbosa, Prof. Titular Marcelo Coelho Goiato e o Prof. Titular Eduardo Pizza Pellizzer.**

Agradeço aos funcionários do Setor técnico de Pós-Graduação: **Cristiane Regina, Maria Clara, Lucas Sousa e Elis Andréa**, que não medem esforços para ajudar no nosso dia a dia acadêmico.

A todos os técnicos (**Carlão, Jander e Eduardinho**) e funcionários (**Marco e Dalete**) do departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, com quem convivi ao longo destes anos e que fizeram a nossa universidade se tornar um ambiente familiar e agradável para trabalhar, estudar e confraternizar.

Ao diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, o **Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem** e vice-diretor **Prof. Titular Luciano Tavares Angelo Cintra** pela oportunidade e honra de realizar este curso de Mestrado.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa do **Prof. Titular Wirley Gonçalves Assunção** e vice- coordenação **Profa. Associada Roberta Okamoto** pelo suporte no desenvolvimento desse trabalho.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** e **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** - Código de Financiamento 001, pelo financiamento e apoio designado ao projeto de pesquisa através da concessão de bolsa de Mestrado (**Processo nº 2022/03791-8, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**).

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** pelo financiamento e apoio designado ao projeto de pesquisa através da concessão de Auxílio Regular (**Processo nº 2021/08529-7**).

Agradecemos ao LabMMEV – FCT/UNESP pela disponibilidade de utilização do Microscópio Eletrônico de Varredura.

RESUMO

Cruz KH. Caracterização do biofilme formado sobre cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, submetidas a diversos protocolos de polimento associados ou não a deposição de plasma de baixa temperatura e diferentes envelhecimentos *in vitro* [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista; 2024.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a estrutura e determinar a quantidade do biofilme misto (*S. mutans* e *C. albicans*) formado sobre 03 cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, uma resina nanocerâmica (Cerasmart - GC), uma cerâmica infiltrada por polímero (VITA Enamic - VITA) e outra cerâmica de zircônia e sílica em uma matriz interpenetrante de resina (SHOFU HC – Shofu Dental), após diferentes protocolos de polimento (P_M - kit de polimento Ceramisté (Shofu) ou S_P - selante de superfícies (Palaseal - kulzer), associados ou não a deposição de filme por PECVD (*plasma-enhanced chemical vapor deposition*) após diferentes procedimentos de envelhecimento *in vitro* (TC -termociclagem ou DE - desafio erosivo), por meio da rugosidade superficial (Ra), quantificação de células cultiváveis (CFUs), análise 3D do biofilme por microscopia confocal a laser (MC) e análise da estrutura dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para cada cerâmica, foram confeccionados 96 espécimes quadrados com dimensões de 5 x 5x 1,2 mm, divididos em grupos de acordo com o tratamento de superfície e envelhecimento. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística ANOVA (3 fatores) e testes de comparação múltipla pareada ($\alpha = 0,05$) para elucidar ainda mais quaisquer achados significativos, não comparando os envelhecimentos *in vitro* entre si. O polimento S_P (com ou sem PECVD) apresentou os menores valores de Ra em todas as cerâmicas, independente dos envelhecimentos *in vitro* realizados. O P_M proporcionou maiores valores de Ra, no entanto, embora com valores Ra abaixo de 0,2 μ m (limite crítico). Ainda, a TC gerou aumento significativo nos grupos com P_M em VE e SH e o DE em CS e SH. O PECVD diminuiu a Ra quando associado ao P_M em VE e SH. O CFU do *S. mutans* foi superior aos da *C. albicans* em ambos os envelhecimentos. Conclui-se que a TC e o DE tiveram efeito negativo sobre a rugosidade de superfície, principalmente, nos grupos que receberam polimento mecânico. O PECVD reduziu a degradação da superfície das cerâmicas frente aos envelhecimentos realizados, principalmente, quando foi associado selante de superfície. Não houve relação direta entre rugosidade e adesão de *S. mutans* e *C. albicans*.

Palavras-chave: ceramicas, desenho assistido por computador, análise microbiológica, gases em plasma.

ABSTRACT

Cruz KH. Characterization of the biofilm formed on ceramics with a resinous matrix for CAD/CAM, subjected to different polishing protocols associated or not with low-temperature plasma deposition and different in vitro aging [dissertation]. Araçatuba: School of Dentistry, Universidade Estadual Paulista; 2024.

The present study aimed to characterize the structure and determine the quantity of the mixed biofilm (*S. mutans* and *C. albicans*) formed on 03 resin matrix ceramic CAD-CAM materials, a nanoceramic resin (Cerasmart - GC), a ceramic infiltrated by polymer (VITA Enamic - VITA) and other zirconia and silica ceramics in an interpenetrating resin matrix (SHOFU HC – Shofu Dental), after different polishing protocols (PM - Ceramisté polishing kit (Shofu) or SP - surface sealant (Palaseal - kulzer), associated or not with film deposition by PECVD (plasma-enhanced chemical vapor deposition) after different in vitro aging (TC - thermocycling or DE - erosive challenge), through surface roughness (Ra), colony-forming units (CFUs), 3D analysis of the biofilm by confocal laser microscopy (MC) and analysis of the biofilm structure by scanning electron microscopy (SEM). For each ceramic, 96 specimens were made with dimensions of 5x5x1.2 mm, divided into groups according to surface treatment and aging. The data obtained were subjected to statistical analysis 3-way ANOVA and multiple paired comparison tests ($\alpha = 0.05$) to further elucidate any significant findings, not comparing in vitro aging with each other. SP polishing (regardless of PECVD) presented the lowest Ra values in all ceramics, regardless of the in vitro aging. PM provided higher Ra values, however, although with Ra values below 0.2 μ m (critical limit). Furthermore, TC significantly increased in groups with PM in VE and SH and DE in CS and SH. PECVD decreased Ra when associated with PM in VE and SH. The CFU of *S. mutans* was higher than that of *C. albicans* in both aging periods. It is concluded that TC and DE had a negative effect on surface roughness, especially in the groups that received mechanical polishing. PECVD reduced the degradation of the ceramic surface due to aging, mainly when surface sealant was associated. There was no direct relationship between roughness and adhesion of *S. mutans* and *C. albicans*.

Keywords: ceramics, computer-aided design, microbiological techniques, plasma gases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental contendo material, tratamentos de superfícies, envelhecimentos, distribuição, número dos espécimes, respostas e tempos das análises a serem realizados	20
Figura 2 - Microscopia confocal a laser do biofilme misto de <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> na superfície da cerâmica Cerasmart – GC (CS)	39
Figura 3 - Microscopia confocal a laser do biofilme misto de <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> na superfície da cerâmica VITA Enamic – VITA (VE)	40
Figura 4 - Microscopia confocal a laser do biofilme misto de <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> na superfície da cerâmica SHOFU HC – Shofu Dental (SH)	41
Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura do biofilme misto de <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> na superfície da cerâmica Cerasmart – GC (CS)	41
Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura do biofilme misto de <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> na superfície da cerâmica VITA Enamic – VITA (VE)	42
Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura do biofilme misto de <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> na superfície da cerâmica SHOFU HC – Shofu Dental (SH)	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nome comercial, composição e fabricante das cerâmicas que foram utilizadas	21
Tabela 2 - ANOVA de três fatores para medidas repetidas para rugosidade superficial de materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem	28
Tabela 3 - Média $\pm$ desvio padrão da rugosidade superficial dos materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem	28
Tabela 4 - ANOVA de três fatores para medidas repetidas para rugosidade superficial de materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo	30
Tabela 5 - Média $\pm$ desvio padrão da rugosidade superficial dos materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo	30
Tabela 6 - ANOVA de medidas repetidas de três fatores para viabilidade de <i>S. mutans</i> (log ₁₀ UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem	32
Tabela 7 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de <i>S. mutans</i> (log ₁₀ UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem	32
Tabela 8 - ANOVA de medidas repetidas de três fatores para viabilidade de <i>C. albicans</i> (log ₁₀ UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem	33
Tabela 9 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de <i>C. albicans</i> (log ₁₀ UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem	34
Tabela 10 - ANOVA de medidas repetidas de três fatores para viabilidade de <i>S. mutans</i> (log ₁₀ UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos a desafio erosivo	36
Tabela 11 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de <i>S. mutans</i> (log ₁₀ UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo	36
Tabela 12 - ANOVA de três fatores para medidas repetidas de viabilidade de <i>C. albicans</i> (log ₁₀ UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos a desafio erosivo	37
Tabela 13 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de <i>C. albicans</i> (log ₁₀ UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Análise estrutural
AM	Análise microbiológica
Ar	Argônio
ASD	Agar Sabouraud Dextrose
BHI	Agar Infusão de Cérebro e Coração
CaCl	Cloreto de cálcio
CAD/CAM	Computer aided- design/ computer aided manufacturing
CFU	Quantificação de células cultiváveis
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de carbono
CS	Cerasmart
DE	Desafio erosivo
DRGE	Doença do refluxo gastroesofágico
HCl	Ácido clorídrico
HMDSO	Hexametildissiloxano
KCl	Cloreto de potássio
MC	Microscopia confocal a laser
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
PECVD	Plasma enhanced chemical vapor deposition
PM/MP	Polimento mecânico
Ra	Rugosidade de superfície
SH	SHOFU HC
SP	Selante fotopolimerizável Palaseal
TC	Termociclagem
VE	VITA Enamic

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	17
3 MATERIAL E MÉTODO	19
3.1 Cálculo Amostral	19
3.2 Delineamento	20
3.3 Formação dos Grupos	20
3.4 Fabricação dos Espécimes	21
3.5 Acabamento e Tratamento de Superfície	21
3.6 Procedimentos de Envelhecimento <i>In Vitro</i>	22
3.6.1 Termociclagem (TC)	22
3.6.2 Desafio Erosivo (DE)	23
3.7 Variáveis de Resposta	23
3.7.1 Rugosidade Superficial – Ra	23
3.7.2 Cepas de Microrganismos e Condições de Crescimento	23
3.7.3 Substratos para Formação de Biofilme	24
3.7.4 Quantificação das Células Cultiváveis (CFUs)	24
3.7.5 Análise 3D do Biofilme por Microscopia Confocal a Laser (MC)	25
3.7.6 Análise da Estrutura dos Biofilmes por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	25
3.8 Período de Análises	25
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
5 RESULTADOS	27
5.1 Rugosidade	27
5.1.1 Termociclagem	27
5.1.2 Desafio Erosivo	29
5.2 Quantificação das Células Cultiváveis (CFUs)	31
5.2.1 Termociclagem	31
5.2.2 Desafio Erosivo	35
5.3 Análise 3D do Biofilme por Microscopia Confocal a Laser (MC)	39
5.4 Análise da Estrutura dos Biofilmes por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	41
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Recentemente, foram desenvolvidas cerâmicas com matriz resinosa, que são materiais híbridos com uma matriz orgânica preenchida principalmente por compostos inorgânicos refratários para uso em tecnologia CAD-CAM¹⁻¹⁰. Esses materiais combinam as vantagens das cerâmicas convencionais (biocompatibilidade, alta estética, resistência ao desgaste e estabilidade de cor) com as dos polímeros (facilidade de polimento, viscoelasticidade, melhores propriedades de flexão e menor desgaste do dente antagonista)^{1,3-7,11}. As cerâmicas híbridas são categorizadas em três grupos pela sua composição: 1) resina nanocerâmica - combinação de resina composta e cerâmica; 2) cerâmica infiltrada por polímero (PICN) - composta por uma rede cerâmica porosa reforçada com polímero; e 3) cerâmica de zircônia e sílica em uma matriz interpenetrante de resina.¹

Os materiais restauradores enfrentam desafios na cavidade oral devido à complexidade do ambiente, que facilitam interações entre microrganismos, levando à formação de biofilmes orais^{12,13}. O biofilme oral é uma matriz extracelular heterogênea onde várias espécies de microrganismos interagem^{12,14}. *Streptococcus*, especialmente *S. mutans*, é prevalente na cavidade oral e está associado à cárie dentária^{15,16}, embora não atue isoladamente. A presença de *C. albicans* pode facilitar o crescimento de *S. mutans* em biofilmes, mas as interações químicas associadas ao acúmulo bacteriano permanecem incertas¹⁶. As bactérias têm afinidade por áreas retentivas, como materiais cerâmicos, portanto, um acabamento e polimento adequados são essenciais para uma superfície lisa¹⁷, diante disso, o adequado acabamento e polimento das restaurações cerâmicas são essenciais para obtenção de uma superfície lisa,^{8,18}. Existe um consenso na literatura atual sobre a importância do polimento adequado das restaurações cerâmicas, pois isso influencia significativamente suas propriedades estruturais e mecânicas. Superfícies ásperas ou rugosas estão diretamente ligadas a um maior risco de acúmulo de biofilme, doença periodontal, cárie secundária e pigmentação^{4,5,8,15,18-27}.

Após fresagem de coroas protéticas pelo sistema CAD/CAM, a superfície frequentemente fica áspera e rugosa, exigindo polimento para obter uma textura lisa e brilhante, podendo ser feito com glaze ou polimento mecânico¹⁹⁻²¹. As cerâmicas híbridas não podem ser submetidas ao processo de queima do glaze em alta temperatura^{4,5,18,22}. Sendo assim, estes materiais são polidos mecanicamente com borrachas manuais, usando ou não pastas de polimento^{18,22}, ou pela aplicação de selantes (glaze fotopolimerizável)^{4,18,28}. Além do

polimento, selantes de superfície são utilizados para preservar ou aprimorar as propriedades mecânicas e estéticas dos materiais restauradores²⁹. Outra alternativa que tem sido proposta para melhorar as propriedades de superfície e diminuir a degradação dos materiais restauradores é a utilização de tratamento de superfície pela deposição de filmes por vapor químico melhorado por plasma (PECVD - *plasma enhanced chemical vapor deposition*) assistido por bombardeamento iônico^{7,30-33,34}. Esse tratamento utiliza monômero de hexametildissiloxano (HMDSO) e gases de argônio (Ar) e metano (CH₄) para produzir uma modificação química na superfície, sem danificar ou alterar a estrutura do material tratado^{31,33,34}.

Vários fatores, incluindo umidade, variação de temperatura, força mastigatória, hábitos parafuncionais, bebidas corantes ou com pH ácido, agentes higiênicos e tabagismo, podem impactar na degradação estrutural das cerâmicas.^{8,23,35-37}. Recentemente, houve um grande interesse na Odontologia sobre a erosão ácida causada pelo ácido gástrico em restaurações cerâmicas^{23,24,38-40}. O ácido gástrico, composto principalmente por ácido clorídrico, possui um pH muito baixo ($\leq 2,0$), o que o torna mais erosivo do que os ácidos encontrados na dieta e causa danos mais graves^{24,39}. Tanto a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) quanto os transtornos alimentares, como anorexia e bulimia nervosa, resultam no acúmulo prolongado de ácido gástrico na boca, o que causa danos significativos aos dentes³⁸.

Não há consenso na literatura sobre o comportamento a longo prazo de materiais híbridos em reabilitações orais. Assim, entender a eficácia dos tratamentos de superfície para cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, em relação à rugosidade e adesão de microrganismos em pH ácido, é fundamental para restaurações clinicamente bem-sucedidas.

2 OBJETIVOS

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a estrutura e determinar a quantidade do biofilme misto formado sobre 03 cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, uma resina nanocerâmica (Cerasmart - GC), uma cerâmica infiltrada por polímero (VITA Enamic - VITA) e outra cerâmica de zircônia e sílica em uma matriz interpenetrante de resina (SHOFU HC – Shofu Dental), após diferentes protocolos de polimento (kit de polimento Ceramisté (Shofu) ou selante de superfícies (Palaseal - kulzer), associados ou não a deposição de filme por PECVD (*plasma-enhanced chemical vapor deposition*) após diferentes

procedimentos de envelhecimento *in vitro* (TC -termociclagem ou DE - desafio erosivo), por meio da rugosidade superficial (Ra), quantificação de células cultiváveis (CFUs), análise 3D do biofilme por microscopia confocal a laser (MC) e análise da estrutura dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As hipóteses nulas eram de que os envelhecimentos *in vitro* e os protocolos de polimento não afetariam a rugosidade superficial (1) e quantidade de biofilme (2) das cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Cálculo Amostral

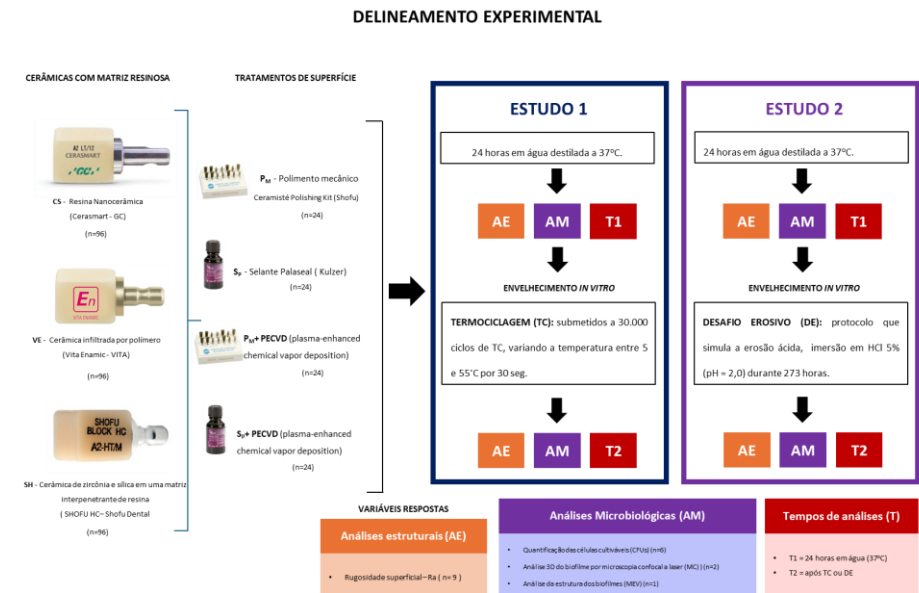
A estimativa do tamanho da amostra foi calculada usando o software G * Power versão 3.1.9.2 (Program written, concept, and design by Franz, Universitat Kiel, Germany). Para a determinação do número de espécimes foi realizado um cálculo amostral por meio da comparação de médias entre os grupos, usando as variáveis primárias do estudo. Foi considerado um nível de confiança de 95% e erro máximo aceitável de 5%, sendo considerado um amplo (forte) poder quando >80%.

Este estudo levantou as hipóteses que os envelhecimentos *in vitro* e os protocolos de polimento não afetariam a rugosidade superficial (1) e quantidade de biofilme (2) das cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM. Para tal, a fórmula do tamanho da amostra é derivada da Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas. O presente estudo realizou cálculo amostral baseado em estudo prévio¹² com metodologia similar, de acordo com as variáveis quantitativas primárias. Com base nos resultados do estudo anterior as variáveis repostas dentro de cada grupo de material são consideradas como normalmente distribuídas com desvio padrão dentro do grupo (DP) de valor de correlação de 0,6. Se a diferença média de cada material (*between-subjects*: tratamentos de superfície; *within-subjects*: antes vs. depois dos envelhecimentos *in vitro*) considerando a variável quantificação das células cultiváveis (CFUs) for real, o estudo necessitou de $n = 6$ espécimes em cada grupo^{5,12} e para as análise de rugosidade de superfície o estudo precisou de $n = 9$ espécimes em cada grupo⁵, para poder rejeitar a hipótese nula de que o procedimento de polimento e envelhecimentos *in vitro* não irão alterar as médias das variáveis dependentes, que se encontram iguais com um erro tipo I de 0,05 e com pelo menos 99% de poder deste estudo. O número de espécimes para as características morfológicas da superfície por meio da análise 3D do biofilme por microscopia confocal a laser (MC) foi de $n = 1$ e análise da estrutura dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi de $n = 1$ ¹².

3.2 Delineamento

O delineamento experimental do estudo encontra-se demonstrado na Figura 1.

Figura 1 - Delineamento experimental contendo material, tratamentos de superfícies, envelhecimentos, distribuição, número dos espécimes, respostas e tempos das análises realizados



Fonte: Autor, 2024

3.3 Formação dos Grupos

As cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM que foram utilizadas estão descritas na Tabela 1. No total foram confeccionados 288 espécimes, sendo 96 espécimes para cada cerâmica testada. Esses foram divididos em grupos de acordo com os tratamentos de superfície, envelhecimentos e análises realizadas, conforme o delineamento experimental (Figura 1).

Tabela 1 - Nome comercial, composição e fabricante das cerâmicas que serão utilizadas

Cerâmicas	Composição	Fabricante
CS - Resina nanocerâmica (Cerasmart)	71% de nanopartículas de sílica e bário unida a 29% de matriz resinosa (BisMEPP, UDMA, DMA)	GC, DentalProducts
VE - Cerâmica infiltrada por polímero (VITA Enamic)	Peso é de 86 % em peso da cerâmica (SiO ₂ ; Al ₂ O ₃ ; Na ₂ O; K ₂ O; Br ₂ O ₃ ; ZrO ₂ ; Ca) e 14% de polímero UDMA, BisGMA e TEGDMA	VITA Zahnfabrik
SH - Silicato de lítio reforçada por zircônia (SHOFU HC)	61% de sílica em pó e silicato de zircônio e uma matriz de resina composta (UDMA, TEGDMA)	SHOFU

Fonte: Autor, 2023

3.4 Fabricação dos Espécimes

Para cada cerâmica (Tabela 1), foram 96 espécimes quadrados com dimensões de 5 x 5 x 1,2 mm⁹. Todos os espécimes foram seccionados com disco diamantado em baixa rotação (300 rpm), sob irrigação abundante e carga de 300g/f em cortadeira metalográfica (Isomet® 1000, Buehler, Illinois, USA). As dimensões finais foram mensuradas com paquímetro digital (Paquímetro Digital Digimatic, Mitutoyo Sul Americana Ltda, Santo Amaro, SP, Brasil).

3.5 Acabamento e Tratamentos de Superfície

Inicialmente, os espécimes foram regularizados com lixas abrasivas de carbureto de silício de 320-Grit (Carbimet Paper Discs; Buehler, IL, EUA), em seguida, foram pré-polidos com lixas abrasivas de carbureto de silício de 600-Grit (Carbimet Paper Discs; Buehler, IL, EUA) em politriz (Arotec Ind. Com., São Paulo, Brasil), sob resfriamento contínuo, para obter superfície plana. Na sequência, os espécimes foram lavados em cuba ultrassônica com água por 10 min e secos por meio de jatos de ar. Em seguida, os espécimes foram divididos de acordo com os tratamentos de superfície realizados em:

- Polimento mecânico (P_M) - Foi realizado o polimento mecânico com kit Ceramisté (SHOFU, Kyoto, Japan) composto por 3 pontas: CERAMISTÉ STANDART para pré-polimento; CERAMISTÉ ULTRA para polimento; CERAMISTÉ ULTRA II para polimento de

alto brilho. O polimento foi realizado por 15 segundos em uma direção e 15 segundos à 90 graus da primeira direção utilizada, com auxílio de um contra-ângulo de baixa rotação de 8000 rpm.

- Selante Palaseal (S_P) - Foi aplicada uma fina camada de selante Palaseal (Heraeus Kulzer) com pincel fino e macio em uma única direção com toque suave, para que apenas uma camada fina fique sobre os espécimes. Depois, foi aguardado o tempo de 20 segundos para o início de uma fotopolimerização com lâmpada de LED (Valo Cordless Grand 3200, Ultradent) por 90 segundos a uma curta distância (0-2mm).
- Polimento mecânico (P_M) + deposição de filme por PECVD ($P_M + PECVD$) – após P_M conforme descrito acima, as superfícies dos espécimes desse grupo foram tratadas pela deposição de filmes de PECVD (*Plasma Chemical Enhanced Vapor Deposition*) utilizando um reator de vidro desenvolvido no Laboratório de Plasmas Tecnológicos (LaPTec, Instituto de Ciência e Tecnologia - ICT/UNESP, Sorocaba, Brasil). Foi evacuado a uma pressão de fundo de 9×10^{-2} Torr. Os plasmas de deposição foram preparados a partir de misturas de 85% de vapor de HMDSO (Hexametildissiloxano) e 15% de Ar (Argônio) na radiofrequência de 13,46 MHz (50 W) por 30 minutos no porta-amostras e aterrando o eletrodo superior sob pressão de trabalho constante de 15×10^{-2} Torr. O HMDSO+Ar foi interrompido imediatamente após esta deposição³⁰⁻³².
- Selante Palaseal (S_P) + deposição de filme por PECVD ($S_P + PECVD$) – aplicação de selante Palaseal seguido da deposição de plasma conforme descritos anteriormente.

3.6 Procedimentos de Envelhecimentos *In Vitro*

3.6.1 Termociclagem (TC)

Os espécimes foram submetidos a 30.000 ciclos de termociclagem, variando a temperatura entre 5 e 55°C por 30 segundos, que corresponde a 3 anos de exposição na cavidade oral⁴.

3.6.2 Desafio Erosivo (DE)

Os espécimes foram submetidos ao protocolo que simula a erosão ácida, no qual foram imersos em HCl 5% (pH = 2,0) durante 273 horas em estufa a 37°C que simula 3 anos de exposição clínica ao ácido clorídrico⁴⁰.

3.7 Variáveis de Resposta

Análise Estrutural (AE)

3.7.1 Rugosidade Superficial - Ra

A rugosidade de superfície (Ra - média aritmética da rugosidade de superfície) foi determinada por meio de rugosímetro portátil (SJ-410, Mitutoyo Sul Americana Ltda, Santo Amaro, SP, Brasil). Foram realizadas três mensurações (centro, direita e esquerda ao centro) em cada espécime. Os seguintes parâmetros foram utilizados: cut-off de 0,25mm a uma velocidade de 0,05mm/s durante 12 segundos. Os valores originais foram em Angström (Å) e transformados para a escala nanométrica (nm).

Análises Microbiológicas (AM)

Para este estudo, foi utilizado o modelo de biofilme misto formado pela mistura de *S. mutans* 10⁷ células/mL e *C. albicans* 10⁷ células/mL, foram realizadas as análises de quantificação de células cultiváveis (CFUs), análise 3D do biofilme por microscopia confocal a laser (MC) e análise da estrutura dos biofilmes por microscopia eletrônica de varredura (MEV), após 24 h de desenvolvimento dos biofilmes.

3.7.2 Cepas de Microrganismos e Condições de Crescimento

Para este estudo foram utilizadas as seguintes cepas de referência da American Type Culture Collection (ATCC): *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Culturas dos microrganismos mantidas a - 70°C em glicerina foram semeadas em Agar Sabouraud Dextrose (ASD; Difco, Le Pont de Claix, França) para a cepa de *C. albicans*, e cultivadas por 24 horas a 37°C. Culturas de *S. mutans* foram semeadas em Agar Infusão de Cérebro e Coração (BHI Agar; Difco) e incubadas em 5% de CO₂ a 37°C por 24 horas.

Após as 24 horas de crescimento, foram coletadas 4 a 6 colônias de cada microrganismo e depositadas em tubo falcon de 15 ml contendo 5ml de meio de cultura, sendo utilizado Sabourud Dextrose Broth (SDB) para *C. albicans* em estufa a 37 °C e Infusão de Cérebro e Coração caldo (BHI) para *S. mutans* e levados a estufa de CO₂ a 37°C por 18 horas para crescimento (overnight). Em seguida, 1 ml do conteúdo do overnight foi transferido para um novo falcon com meio de cultura para realizar o ajuste da Densidade óptica dos microrganismos através de espectrofotômetro com valor de 300nm como referência para ambos os microrganismos, sendo utilizado novamente Sabourud Dextrose Broth (SDB) para *C. albicans* em estufa e Infusão de Cérebro e Coração caldo (BHI) para *S. mutans*. Depois de ajustada a D.O, os microrganismos foram centrifugados a 6000 rpm por 5 minutos e lavados com NaCl 0,9%, sendo centrifugados novamente. Após a lavagem dos microrganismos, foi adicionado um novo meio de cultura (BHI) para ambos os microrganismos, estes então foram vigorosamente vortexados e unidos em um falcon de 50 ml para criar um mix dos microrganismos⁴¹.

3.7.3 Substratos para Formação de Biofilme

Os substratos para formação de biofilme foram os espécimes das cerâmicas com dimensões de 5 x 5x 1,2mm. Previamente aos ensaios, os espécimes foram esterilizados em luz ultravioleta, sendo expostos por 30 minutos em cada face. Após a esterilização foi depositada saliva humana estimulada, foram coletadas amostras de saliva (24mL) de 03 voluntários saudáveis, devidamente informados sobre os objetivos e a metodologia do estudo, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os voluntários que aceitaram participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, o qual foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOA – UNESP (CAAE: 79049224.6.0000.5420). Previamente, a saliva foi centrifugada e filtrada com filtro de 0,22 µm sobre a superfície das amostras presentes em placas de 48 poços e levadas para estufa de agitação a 37°C por 2 horas para a formação de película salivar⁴².

3.7.4 Quantificação das Células Cultiváveis (CFUs)

Após 24 horas de incubação, o biofilme misto de *C. albicans* e *S. mutans* formados sob os espécimes em placas de 48 poços foram lavados duas vezes com solução salina (NaCl 0,9%) e, posteriormente, os espécimes foram depositados em endorfs contendo 1ml de NaCl e vigorosamente vortexadas por 1 minuto e, então, foram realizadas diluições decimais seriadas

(em NaCl) que foram plaqueadas em Agar Sabouraud Dextrose (ASD) e levados em estufa a 37°C para crescimento da *C. albicans* e Agar Infusão de Cérebro e Coração (BHI), levados em estufa de CO₂ a 37°C para crescimento de *S. mutans*. Após 24 horas de incubação a 37°C, foi realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônias (log₁₀ UFC/cm²).

3.7.5 Análise 3D do Biofilme por Microscopia Confocal a Laser (MC)

A microscopia confocal foi realizada para analisar em 3D e quantificar a espessura do biofilme formado sobre os espécimes. Imagens dos grupos controle (após 24 horas em água destilada) também foram incluídas nesta análise. Os biofilmes foram cultivados nos espécimes de cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM conforme descrito acima. Após 24h, os biofilmes foram enxaguados usando NaCl 0,9% esterilizado e corados com ácido nucléico verde fluorescente, Bacterial Viability Kit (LIVE/DEAD® BacLight™) e solução de iodeto de propídio (LIVE/DEAD® BacLight™) sob proteção da luz por 20 minutos⁴². Em seguida, depositados em solução salina. As imagens foram obtidas em um microscópio de fluorescência confocal C2/C2si (Nikon, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil).

3.7.6 Análise da Estrutura dos Biofilmes por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para examinar a estrutura dos biofilmes formados sobre a superfície dos espécimes. Imagens dos grupos controle (após 24 horas em água destilada) também foram incluídas nesta análise. Assim, após 24h de incubação dos biofilmes, os espécimes foram lavados com NaCl 0,9% para remoção dos microrganismos não aderidos. Os espécimes contendo os biofilmes foram fixados com glutaraldeído 2,5% por 4 horas e, em seguida, desidratados em uma sequência de álcool (usando etanol 50% por 10 minutos, etanol 60% por 10 minutos, etanol 70% por 10 minutos, etanol 80% por 10 minutos, etanol 90% por 10 minutos, etanol 100% por 10 minutos, sendo repetido por 3 vezes na concentração 100%) e secos ao ar por 20 minutos⁴³. Posteriormente, as leituras foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (Laboratório de microscopia eletrônica de varredura, FCT/UNESP, Presidente Prudente, SP, Brasil).

3.8 Período de Análises

As análises foram realizadas em 2 tempos distintos: T₁ - após 24 horas em água destilada

(inicial) e T₂ - após TC ou DE.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística os procedimentos de envelhecimentos *in vitro* (TC ou DE) foram comparados independentemente, ou seja, não foram comparados entre si. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas de três fatores ($\alpha = 0,05$) para avaliar a influência e interação das variáveis independentes (material, tratamento e período de envelhecimento) nos desfechos avaliados (rugosidade e CFU). Além disso, testes de comparação múltipla pareada foram realizados ($\alpha = 0,05$) para elucidar ainda mais quaisquer achados significativos.

Nos ensaios de MC e MEV foi realizada a análise qualitativa da estrutura do biofilme formado e as imagens foram comparados visualmente entre os diferentes grupos propostos.

5 RESULTADOS

5.1 Rugosidade

5.1.1 Termociclagem

A análise estatística realizada por meio da ANOVA revelou efeito significativo de interação entre termociclagem, composição do material e tratamento superficial no parâmetro rugosidade ($P < 0,05$) (Tabela 2). Investigações adicionais através de comparações múltiplas (Tabela 3) elucidaram que ambos os tratamentos S_P e $S_{P+PECVD}$ exibiram valores de rugosidade superficial significativamente menores em todos os materiais testados ($P < 0,05$). Quanto à influência do tratamento PECVD, quando o S_P foi comparado ao $S_{P+PECVD}$, o plasma não induziu alterações significativas nos valores de rugosidade das superfícies tratadas com selante Palaseal, exceto para SH, onde a aplicação do plasma resultou em aumento da rugosidade no período inicial ($P < 0,05$). Por outro lado, o tratamento PECVD levou à diminuição dos valores de rugosidade para os materiais submetidos ao P_M ($P < 0,05$), exceto na VE e SH após termociclagem em que não houve alteração significativa.

Em ambos os períodos, VE exibiu consistentemente maior rugosidade superficial em comparação com CS e SH quando submetido a ambas as técnicas de polimento mecânico, com e sem PECVD ($P < 0,05$). Notavelmente, não houve diferenças significativas entre os materiais quando tratados com Palaseal. No entanto, é interessante notar que embora o tratamento $S_{P+PECVD}$ não tenha alterado a rugosidade superficial dos materiais durante o período inicial, uma mudança significativa foi observada após a termociclagem, com CS demonstrando valores de rugosidade mais elevados em comparação com VE ($P < 0,05$).

Além disso, foram observadas diferenças significativas entre os períodos (T1 vs. T2) para combinações específicas de tratamento-material, indicando mudanças na rugosidade superficial ao longo do tempo. Especificamente, o grupo VE submetido ao polimento mecânico, VE tratado com $P_M + PECVD$, o grupo SH tratado com S_P e o grupo SH tratado com $P_M + PECVD$ apresentaram valores significativamente mais elevados de rugosidade superficial após termociclagem ($P < 0,05$). No entanto, curiosamente, todos os materiais tratados com $S_{P+PECVD}$ não apresentaram alterações na rugosidade após a termociclagem, indicando a estabilidade desta combinação de tratamento ao longo do tempo. Estas descobertas enfatizam a natureza dinâmica das propriedades da superfície e destacam o impacto da duração do tratamento nas características da superfície.

Tabela 2 - ANOVA de três fatores para medidas repetidas para rugosidade superficial de materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	df	F	P
Material	0.005	2	20.654	<0.001*
Tratamento	0.364	3	1013.470	<0.001*
Período	0.002	1	21.574	<0.001*
Material*Tratamento	0.008	6	11.483	<0.001*
Material*Período	0.000	2	1.394	0.256
Tratamento*Período	0.001	3	4.670	0.005*
Material*Tratamento*Período	0.002	6	3.364	0.006*

df, grau de liberdade. *estatisticamente significativo ($P < 0.05$).

Fonte: Autor, 2024

Tabela 3 - Média $\pm$ desvio padrão da rugosidade superficial dos materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem

Tratamento	T ₁			T ₂		
	CS	VE	SH	CS	VE	SH
P_M	0.155 $\pm$ 0.009 ^{Ab}	0.173 $\pm$ 0.008 ^{Aa#}	0.151 $\pm$ 0.011 ^{Ab}	0.145 $\pm$ 0.013 ^{Ab}	0.185 $\pm$ 0.008 ^{Aa#}	0.156 $\pm$ 0.006 ^{Ab}
S_P	0.044 $\pm$ 0.006 ^{Ca}	0.048 $\pm$ 0.010 ^{Ca}	0.043 $\pm$ 0.009 ^{Da%}	0.054 $\pm$ 0.004 ^{Ca}	0.052 $\pm$ 0.006 ^{Ba}	0.056 $\pm$ 0.005 ^{Ba%}
P_M+ PECVD	0.125 $\pm$ 0.183 ^{Bb}	0.148 $\pm$ 0.008 ^{Ba\$}	0.135 $\pm$ 0.011 ^{Bb@}	0.130 $\pm$ 0.024 ^{Bc}	0.176 $\pm$ 0.018 ^{Aa\$}	0.150 $\pm$ 0.008 ^{Ab@}
S_P+ PECVD	0.054 $\pm$ 0.008 ^{Ca}	0.054 $\pm$ 0.005 ^{Ca}	0.056 $\pm$ 0.006 ^{Ca}	0.063 $\pm$ 0.003 ^{Ca}	0.047 $\pm$ 0.005 ^{Bb}	0.059 $\pm$ 0.005 ^{Bab}

^{ABC}Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa entre os diferentes tratamentos (polimento mecânico vs. palaseal vs. polimento mecânico+PECVD vs. palaseal+PECVD) dentro do mesmo nível de material em cada período ($P < 0,05$).

^{abc}Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam uma diferença significativa entre diferentes materiais (CS vs. VE vs. SH) dentro do mesmo nível de tratamento em cada período ($P < 0,05$).

[#]Indica diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo VE com polimento mecânico.

^{\$}Indica diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo VE com polimento mecânico+PECVD

[%]Indica diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo SH com palaseal.

[@]Indica diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo SH com polimento mecânico+PECVD.

Fonte: Autor, 202

5.1.2 Desafio Erosivo

A análise estatística realizada por meio da ANOVA revelou efeito significativo de interação entre desafio erosivo, composição do material e tratamento de superfície em relação ao parâmetro rugosidade ($P < 0,05$) (Tabela 4). Investigações adicionais através de comparações múltiplas (Tabela 5) elucidaram que ambos os tratamentos S_P e $S_P + \text{PECVD}$ exibiram valores de rugosidade superficial significativamente menores em todos os materiais testados ($P < 0,05$).

Quanto à influência do tratamento PECVD, quando o Palaseal foi comparado ao $S_P + \text{PECVD}$, o plasma não induziu alterações significativas nos valores de rugosidade das superfícies tratadas com Palaseal, exceto para VE, onde a aplicação de plasma resultou em aumento da rugosidade durante o período inicial ($P < 0,05$). Por outro lado, o tratamento PECVD levou à diminuição dos valores de rugosidade para os materiais submetidos ao polimento mecânico ($P < 0,05$), exceto para aqueles compostos por CS no período inicial de avaliação, em que os valores de P_M vs. $P_M + \text{PECVD}$ foram semelhantes.

Em ambos os períodos não houve diferenças significativas entre os materiais quando tratados apenas com Palaseal. Porém, quando o Palaseal foi combinado com o PECVD, durante o período inicial, o SH apresentou valores mais baixos em comparação ao VE ($P < 0,05$). Porém, após o desafio erosivo, não foi observada diferença entre os materiais. Em relação ao polimento mecânico, no período inicial, os valores de rugosidade seguiram a ordem $VE > SH > CS$ ($P < 0,05$), não sendo observada diferença pós - desafio erosivo. O único tratamento que apresentou diferenças entre os materiais após o desafio erosivo foi o polimento mecânico combinado com PECVD, onde o VE apresentou valores superiores ao CS ($P < 0,05$), sem diferença significativa observada com o SH.

Além disso, foram observadas diferenças entre os dois períodos (T1 vs. T2) para certos pares de tratamento-material, sugerindo alterações na rugosidade da superfície ao longo da duração do desafio erosivo. Especificamente, os materiais CS e SH submetidos ao polimento mecânico, e o material VE submetido ao Palaseal e $P_M + \text{PECVD}$ tiveram seus valores de rugosidade aumentados após desafio erosivo ($P < 0,05$). Porém, curiosamente, foi observado que a rugosidade de todos os materiais tratados com $S_P + \text{PECVD}$ permaneceu inalterada após o desafio erosivo, sugerindo a durabilidade desta combinação de tratamento mesmo após o envelhecimento.

Tabela 4 - ANOVA de três fatores para medidas repetidas para rugosidade superficial de materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	df	F	P
Material	0.004	2	12.014	<0.001*
Tratamento	0.354	3	788.455	<0.001*
Período	0.003	1	29.902	<0.001*
Material*Tratamento	0.003	6	2.789	0.018*
Material*Período	0.001	2	4.037	0.023*
Tratamento*Período	0.001	3	3.780	0.015*
Material*Tratamento*Período	0.004	6	5.813	<0.001*

df, grau de liberdade. *estatisticamente significativo ($P < 0.05$).

Fonte: Autor, 2024

Tabela 5 - Média $\pm$ desvio padrão da rugosidade superficial dos materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo

Tratamento	T ₁			T ₂		
	CS	VE	SH	CS	VE	SH
P_M	0.131 $\pm$ 0.015 ^{Ac#}	0.179 $\pm$ 0.002 ^{Aa}	0.156 $\pm$ 0.003 ^{Ab\$}	0.175 $\pm$ 0.018 ^{Aa#}	0.174 $\pm$ 0.007 ^{Aa}	0.172 $\pm$ 0.009 ^{Aa\$}
S_P	0.045 $\pm$ 0.006 ^{Ba}	0.048 $\pm$ 0.008 ^{Da%}	0.056 $\pm$ 0.002 ^{Ca}	0.051 $\pm$ 0.006 ^{Ca}	0.062 $\pm$ 0.008 ^{Ca%}	0.056 $\pm$ 0.004 ^{Ca}
P_M+PECVD	0.127 $\pm$ 0.190 ^{Aa}	0.141 $\pm$ 0.017 ^{Bb@}	0.141 $\pm$ 0.018 ^{Bb}	0.133 $\pm$ 0.018 ^{Bb}	0.157 $\pm$ 0.014 ^{Ba@}	0.146 $\pm$ 0.016 ^{Bab}
S_P+PECVD	0.055 $\pm$ 0.010 ^{Bab}	0.063 $\pm$ 0.007 ^{Ca}	0.050 $\pm$ 0.009 ^{Cb}	0.064 $\pm$ 0.011 ^{Ca}	0.056 $\pm$ 0.011 ^{Ca}	0.057 $\pm$ 0.002 ^{Ca}

^{ABC}Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa entre os diferentes tratamentos (polimento mecânico vs. palaseal vs. polimento mecânico+PECVD vs. palaseal+PECVD) dentro do mesmo nível de material em cada período ($P < 0,05$).

^{abc} Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam uma diferença significativa entre diferentes materiais (CS vs. VE vs. SH) dentro do mesmo nível de tratamento em cada período ($P < 0,05$).

[#]Indica diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo CS com polimento mecânico.

[%]Indicam diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo VE com palaseal.

[@]Indicar diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo VE com polimento mecânico+PECVD.

^{\$}Indica diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) para o grupo SH com polimento mecânico.

Fonte: Autor, 2024

5.2 Quantificação das Células Cultiváveis (CFUs)

5.2.1 Termociclagem

Em relação às contagens de CFU de *S. mutans*, a análise estatística realizada por meio de ANOVA revelou efeito significativo de interação entre termociclagem, composição do material e tratamento de superfície ($P < 0,05$) (Tabela 6). As comparações múltiplas subsequentes (Tabela 7) forneceram informações adicionais. Inicialmente, todos os tratamentos de superfície resultaram em contagens semelhantes de *S. mutans* para CS. No entanto, após a termociclagem, $S_P + \text{PECVD}$ demonstrou valores significativamente maiores em comparação com outros tratamentos ($P < 0,05$). Por outro lado, ambos os tratamentos S_P e $S_P + \text{PECVD}$ produziram inicialmente contagens menores de *S. mutans* para VE. Porém, após a termociclagem, esses grupos apresentaram contagens maiores em comparação ao polimento mecânico ($P < 0,05$). Notavelmente, para o material SH, o polimento mecânico inicialmente levou a contagens mais altas de *S. mutans* em comparação com o $P_M + \text{PECVD}$. No entanto, após a termociclagem, estas contagens tornaram-se semelhantes, tanto o polimento mecânico com ou sem PECVD apresentando contagens significativamente mais baixas em comparação com $S_P + \text{PECVD}$ ($P < 0,05$).

Durante o período inicial, não foram observadas diferenças significativas entre os materiais tratados com P_M ou S_P . Porém, quando submetido ao $P_M + \text{PECVD}$, o SH apresentou menor contagem de *S. mutans* em comparação ao CS e VE ($P < 0,05$), e quando tratado com $S_P + \text{PECVD}$, o CS apresentou contagens maiores em comparação ao VE ($P < 0,05$). Após a termociclagem, o VE exibiu a menor contagem de *S. mutans* entre os materiais ($P < 0,05$) quando tratado com P_M ou $S_P + \text{PECVD}$. Notavelmente, nos grupos S_P e $P_M + \text{PECVD}$, o CS demonstrou os valores mais elevados em comparação com o VE ($P < 0,05$).

Na comparação entre os períodos (T1 vs. T2), quase todas as combinações de material de tratamento exibiram valores de contagem de *S. mutans* significativamente mais elevados após a termociclagem em comparação com o período inicial ($P < 0,05$). A única exceção foi observada no VE tratado com polimento mecânico + PECVD, onde os valores permaneceram semelhantes nos dois períodos.

Tabela 6 - ANOVA de medidas repetidas de três fatores para viabilidade de *S. mutans* (log10 UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	df	F	P
Material	3.694	2	13.962	<0.001*
Tratamento	1.456	3	3.668	0.017*
Período	15.422	1	104.985	<0.001*
Material*Tratamento	3.258	6	4.105	0.002*
Material*Período	1.958	2	6.666	0.002*
Tratamento*Período	3.719	3	8.439	<0.001*
Material*Tratamento*Período	3.781	6	4.290	0.001*

df, grau de liberdade. *estatisticamente significativo ($P < 0.05$).

Fonte: Autor, 2024

Tabela 7 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de *S. mutans* (log10 UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem

Tratamento	T ₁			T ₂		
	CS	VE	SH	CS	VE	SH
P_M	6.35 $\pm$ 0.25 ^{Aa#}	6.53 $\pm$ 0.23 ^{Aa*}	6.24 $\pm$ 0.16 ^{Aax}	6.91 $\pm$ 0.23 ^{Ba#}	5.96 $\pm$ 0.15 ^{Cb*}	6.77 $\pm$ 0.09 ^{BCax}
S_P	6.13 $\pm$ 0.40 ^{Aa@}	5.75 $\pm$ 0.59 ^{Ba!}	6.12 $\pm$ 0.60 ^{ABaδ}	6.97 $\pm$ 0.23 ^{Ba@}	6.50 $\pm$ 0.10 ^{Bb!}	6.58 $\pm$ 0.19 ^{Cbδ}
P_M+PECVD	6.34 $\pm$ 0.19 ^{Aa%}	6.72 $\pm$ 0.24 ^{Aa}	5.61 $\pm$ 0.76 ^{Bbπ}	7.06 $\pm$ 0.09 ^{Ba%}	6.71 $\pm$ 0.43 ^{ABb}	6.92 $\pm$ 0.20 ^{Babπ}
S_P+PECVD	6.56 $\pm$ 0.21 ^{Aa\$}	5.61 $\pm$ 0.60 ^{Bb?}	6.01 $\pm$ 0.89 ^{ABabΔ}	7.33 $\pm$ 0.06 ^{Aa\$}	6.80 $\pm$ 0.20 ^{Ab?}	7.30 $\pm$ 0.14 ^{AaΔ}

^{ABC} Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa entre os diferentes tratamentos (polimento mecânico vs. palaseal vs. polimento mecânico+PECVD vs. palaseal+PECVD) dentro do mesmo nível de material em cada período ($P < 0,05$).

^{abc} Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam uma diferença significativa entre diferentes materiais (CS vs. VE vs. SH) dentro do mesmo nível de tratamento em cada período ($P < 0,05$).

Os mesmos símbolos na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos (T₁ vs. T₂) dentro do mesmo grupo de material de tratamento ([#]CS-polimento mecânico; [@]CS-palaseal; [%]CS-polimento mecânico+PECVD; ^{\$}CS-palaseal+PECVD; ^{*}VE-polimento mecânico; [!]VE-palaseal; [?]VE-palaseal+PECVD; ^πSH-polimento mecânico; ^δSH-palaseal; ^ΔSH-polimento mecânico+PECVD; ^ΔSH-palaseal+PECVD).

Fonte: Autor, 2024

Em relação às contagens de CFU de *C. albicans*, a análise estatística realizada por meio de ANOVA revelou efeito de interação significativo apenas entre tratamento de superfície e período de termociclagem ($P < 0,05$) (Tabela 8). As comparações subsequentes aos pares (Tabela 9) lançaram mais luz sobre os resultados. Inicialmente, os grupos submetidos ao PECVD exibiram contagens mais baixas de *C. albicans*, com $P_M + \text{PECVD}$ mostrando diferença significativa em comparação ao polimento mecânico e ao Palaseal ($P < 0,05$). Notavelmente, estes valores permaneceram consistentes mesmo após a termociclagem. Por outro lado, embora o polimento mecânico e o Palaseal inicialmente apresentassem contagens mais altas de *C. albicans*, elas diminuíram após a termociclagem ($P < 0,05$). Além dessa redução, a análise após termociclagem indicou contagens de CFU estatisticamente menores para polimento mecânico em comparação aos grupos tratados com PECVD ($P < 0,05$).

Tabela 8 - ANOVA de medidas repetidas de três fatores para viabilidade de *C. albicans* (log10 UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	df	F	P
Material	1.267	2	4.796	0.012*
Tratamento	1.417	3	3.576	0.019*
Período	3.579	1	31.614	<0.001*
Material*Tratamento	.893	6	1.127	0.358
Material*Período	.278	2	1.226	0.301
Tratamento*Período	3.673	3	10.817	<0.001*
Material*Tratamento*Período	1.300	6	1.914	0.093

df, grau de liberdade. *estatisticamente significativo ($P < 0.05$).

Fonte: Autor, 2024

Tabela 9 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de *C.albicans* (log10 UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos à termociclagem

Tratamento	T ₁			T ₂			Média agrupada de Tukey Tratamento*Período ($P<0.001$) Média $\pm$ desvio padrão	
	CS	VE	SH	CS	VE	SH	T ₁	T ₂
P_M	5.18 $\pm$ 0.26	5.41 $\pm$ 0.61	5.38 $\pm$ 0.08	4.56 $\pm$ 0.35	4.47 $\pm$ 0.10	4.60 $\pm$ 0.07	5.32 $\pm$ 0.11 ^{Aa}	4.54 $\pm$ 0.03 ^{Cb}
S_P	5.39 $\pm$ 0.03	4.93 $\pm$ 0.62	4.76 $\pm$ 0.62	4.60 $\pm$ 0.10	4.42 $\pm$ 0.14	4.73 $\pm$ 0.20	5.03 $\pm$ 0.11 ^{ABa}	4.58 $\pm$ 0.03 ^{BCb}
P_M+PECVD	4.93 $\pm$ 0.61	4.41 $\pm$ 0.16	4.67 $\pm$ 0.65	4.65 $\pm$ 0.05	4.53 $\pm$ 0.12	4.73 $\pm$ 0.10	4.67 $\pm$ 0.11 ^{Ca}	4.63 $\pm$ 0.03 ^{Ba}
S_P+PECVD	5.00 $\pm$ 0.47	4.51 $\pm$ 0.38	4.84 $\pm$ 0.60	4.94 $\pm$ 0.12	4.74 $\pm$ 0.19	4.65 $\pm$ 0.03	4.79 $\pm$ 0.11 ^{BCa}	4.78 $\pm$ 0.03 ^{Aa}

Apenas uma interação (tratamento*período) resultou em diferença estatisticamente significativa. A média agrupada de materiais para cada tratamento e período é exibida em uma coluna separada para comparações estatísticas.

^{ABC} Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa entre os diferentes tratamentos (polimento mecânico vs. palaseal vs. polimento mecânico+PECVD vs. palaseal+PECVD) dentro do mesmo nível de período ($P < 0,05$).

^{abc} Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam uma diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) dentro do mesmo nível de tratamento ($P < 0,05$).

Fonte: Autor, 2024

5.2.2 Desafio Erosivo

Em relação às contagens de CFU de *S. mutans*, a análise estatística realizada utilizando ANOVA revelou um efeito significativo de interação entre desafio erosivo, composição do material e tratamento de superfície ($P < 0,05$) (Tabela 10). As comparações múltiplas subsequentes (Tabela 11) forneceram informações adicionais.

Inicialmente, todos os tratamentos de superfície resultaram em contagens semelhantes de *S. mutans* para CS. Porém, após o desafio erosivo, os grupos submetidos ao tratamento com plasma ($P_M + \text{PECVD}$ e $S_P + \text{PECVD}$) exibiram valores significativamente maiores em comparação aos grupos sem plasma ($P < 0,05$). Quanto ao material VE, quando submetido ao polimento mecânico, apresentou inicialmente maiores contagens de *S. mutans* em comparação ao Palaseal com e sem plasma ($P < 0,05$). Porém, após o desafio erosivo, o polimento mecânico apresentou as menores contagens entre os grupos ($P < 0,05$). Da mesma forma, o material SH submetido ao polimento mecânico apresentou inicialmente valores mais elevados, com diferenças apenas notadas quando comparado ao polimento mecânico + PECVD ($P < 0,05$). Porém, após o desafio erosivo, o polimento mecânico apresentou a menor quantidade de *S. mutans* em comparação aos demais tratamentos ($P < 0,05$).

Quando comparados materiais dentro de um mesmo tratamento de superfície, no período inicial, não foram observadas diferenças significativas entre os materiais tratados com polimento mecânico ou Palaseal. Entretanto, quando submetido ao polimento mecânico + PECVD, o SH apresentou menor contagem de *S. mutans* em comparação ao CS e VE ($P < 0,05$), e quando tratado com $S_P + \text{PECVD}$, o VE apresentou menor contagem em comparação ao CS ($P < 0,05$). Após o desafio erosivo, o VE exibiu a menor contagem de *S. mutans* entre os materiais, independentemente do tratamento superficial. Diferenças significativas foram encontradas entre VE vs. CS para polimento mecânico, VE vs. SH para S_P e VE vs. CS para $S_P + \text{PECVD}$ ($P < 0,05$).

Na comparação entre os períodos (T1 vs. T2), quase todas as combinações de material de tratamento exibiram valores de contagem de *S. mutans* significativamente mais elevados após a termociclagem em comparação com o período inicial ($P < 0,05$). A exceção foi observada em CS tratado com polimento mecânico, SH tratado com polimento mecânico e VE tratado com $P_M + \text{PECVD}$, onde os valores permaneceram semelhantes nos dois períodos.

Tabela 10 - ANOVA de medidas repetidas de três fatores para viabilidade de *S. mutans* (log₁₀ UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos a desafio erosivo

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	df	F	P
Material	1.766	2	6.099	0.004*
Tratamento	3.698	3	8.513	<0.001*
Período	5.998	1	44.117	<0.001*
Material*Tratamento	4.263	6	4.907	<0.001*
Material*Período	1.629	2	5.991	0.004*
Tratamento*Período	10.447	3	25.613	<0.001*
Material*Tratamento*Período	3.155	6	3.868	0.003*

df, grau de liberdade. *estatisticamente significativo ($P < 0.05$).

Fonte: Autor, 2024

Tabela 11 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de *S. mutans* (log₁₀ UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo

Tratamento	T ₁			T ₂		
	CS	VE	SH	CS	VE	SH
P_M	6.35 $\pm$ 0.25 ^{Aa}	6.53 $\pm$ 0.23 ^{Aa*}	6.24 $\pm$ 0.16 ^{Aa}	6.01 $\pm$ 0.41 ^{Ca}	5.40 $\pm$ 0.18 ^{Cb*}	6.23 $\pm$ 0.11 ^{Ca}
S_P	6.13 $\pm$ 0.40 ^{Aa@}	5.75 $\pm$ 0.59 ^{Ba!}	6.12 $\pm$ 0.60 ^{ABaδ}	6.58 $\pm$ 0.09 ^{Bb@}	6.47 $\pm$ 0.16 ^{Bb!}	6.88 $\pm$ 0.09 ^{ABaδ}
P_M+PECVD	6.34 $\pm$ 0.19 ^{Aa%}	6.72 $\pm$ 0.24 ^{Aa}	5.61 $\pm$ 0.76 ^{Bbπ}	6.99 $\pm$ 0.11 ^{Ab%}	6.65 $\pm$ 0.26 ^{ABb}	6.69 $\pm$ 0.26 ^{Bbπ}
S_P+PECVD	6.56 $\pm$ 0.21 ^{Aa\$}	5.61 $\pm$ 0.60 ^{Bb?}	6.01 $\pm$ 0.89 ^{ABabΔ}	7.16 $\pm$ 0.12 ^{Aa\$}	6.84 $\pm$ 0.23 ^{Ab?}	6.96 $\pm$ 0.17 ^{AabΔ}

^{ABC}Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa entre os diferentes tratamentos (polimento mecânico vs. palaseal vs. polimento mecânico+PECVD vs. palaseal+PECVD) dentro do mesmo nível de material em cada período ($P < 0,05$).

^{abc} Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam uma diferença significativa entre diferentes materiais (CS vs. VE vs. SH) dentro do mesmo nível de tratamento em cada período ($P < 0,05$).

Os mesmos símbolos na mesma linha indicam diferença significativa entre os períodos (T₁ vs. T₂) dentro do mesmo grupo de material de tratamento (@CS-palaseal; %CS-polimento mecânico+PECVD; \$CS-palaseal+PECVD; *VE-polimento mecânico; !VE-palaseal; ?VE-palaseal+PECVD; δSH-palaseal; πSH-polimento mecânico+PECVD; ΔSH-palaseal+PECVD).

Fonte: Autor, 2024

Em relação às contagens de CFU de *C. albicans*, a análise estatística realizada por meio de ANOVA revelou efeito de interação significativo apenas entre tratamento de superfície e período de desafio erosivo ($P < 0,05$) (Tabela 12). As comparações subsequentes aos pares (Tabela 13) lançaram mais luz sobre os resultados. Inicialmente, os grupos submetidos ao PECVD exibiram contagens mais baixas de *C. albicans*, com $P_M + PECVD$ mostrando diferença significativa em comparação ao polimento mecânico e ao Palaseal ($P < 0,05$). Notavelmente, estes valores permaneceram consistentes mesmo após o desafio erosivo. Por outro lado, embora o polimento mecânico e o Palaseal inicialmente apresentassem contagens mais altas de *C. albicans*, foi observada uma redução após o desafio erosivo ($P < 0,05$). Além disso, a análise pós-desafio erosivo indicou que palaseal + PECVD apresentou as maiores contagens de *C. albicans*, com diferença estatística com todos os demais tratamentos ($P < 0,05$).

Tabela 12 - ANOVA de três fatores para medidas repetidas de viabilidade de *C. albicans* (log10 UFC/mL) em materiais com diferentes tratamentos submetidos a desafio erosivo

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	df	F	P
Material	1.681	2	5.534	0.006*
Tratamento	1.529	3	3.356	0.025*
Período	5.950	1	55.888	<0.001*
Material*Tratamento	1.379	6	1.513	0.189
Material*Período	.654	2	3.069	0.054
Tratamento*Período	3.870	3	12.117	<0.001*
Material*Tratamento*Período	.895	6	1.401	0.229

df, grau de liberdade. *estatisticamente significativo ($P < 0.05$).

Fonte: Autor, 2024

Tabela 13 - Média $\pm$ desvio padrão da viabilidade de *C. albicans* (log10 UFC/ml) em materiais com diferentes tratamentos submetidos ao desafio erosivo

Tratamento	T ₁			T ₂			Média agrupada de Tukey Tratamento*Período ($P < 0.001$) Média $\pm$ desvio padrão	
	CS	VE	SH	CS	VE	SH	T ₁	T ₂
P_M	5.18 $\pm$ 0.26	5.41 $\pm$ 0.61	5.38 $\pm$ 0.08	4.48 $\pm$ 0.17	4.17 $\pm$ 0.17	4.62 $\pm$ 0.06	5.32 $\pm$ 0.11 ^{Aa}	4.42 $\pm$ 0.04 ^{Bb}
S_P	5.39 $\pm$ 0.03	4.93 $\pm$ 0.62	4.76 $\pm$ 0.62	4.59 $\pm$ 0.24	4.50 $\pm$ 0.19	4.50 $\pm$ 0.09	5.03 $\pm$ 0.11 ^{ABa}	4.53 $\pm$ 0.04 ^{Bb}
P_M+PECVD	4.93 $\pm$ 0.61	4.41 $\pm$ 0.16	4.67 $\pm$ 0.65	4.51 $\pm$ 0.07	4.37 $\pm$ 0.22	4.64 $\pm$ 0.27	4.67 $\pm$ 0.11 ^{Ca}	4.51 $\pm$ 0.04 ^{Ba}
S_P+PECVD	5.00 $\pm$ 0.47	4.51 $\pm$ 0.38	4.84 $\pm$ 0.60	4.71 $\pm$ 0.08	4.48 $\pm$ 0.07	4.98 $\pm$ 0.14	4.79 $\pm$ 0.11 ^{BCa}	4.72 $\pm$ 0.04 ^{Aa}

Apenas uma interação (tratamento*período) resultou em diferença estatisticamente significativa. A média agrupada de materiais para cada tratamento e período é exibida em uma coluna separada para comparações estatísticas.

^{ABC} Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa entre os diferentes tratamentos (polimento mecânico vs. palaseal vs. polimento mecânico+PECVD vs. palaseal+PECVD) dentro do mesmo nível de período ($P < 0,05$).

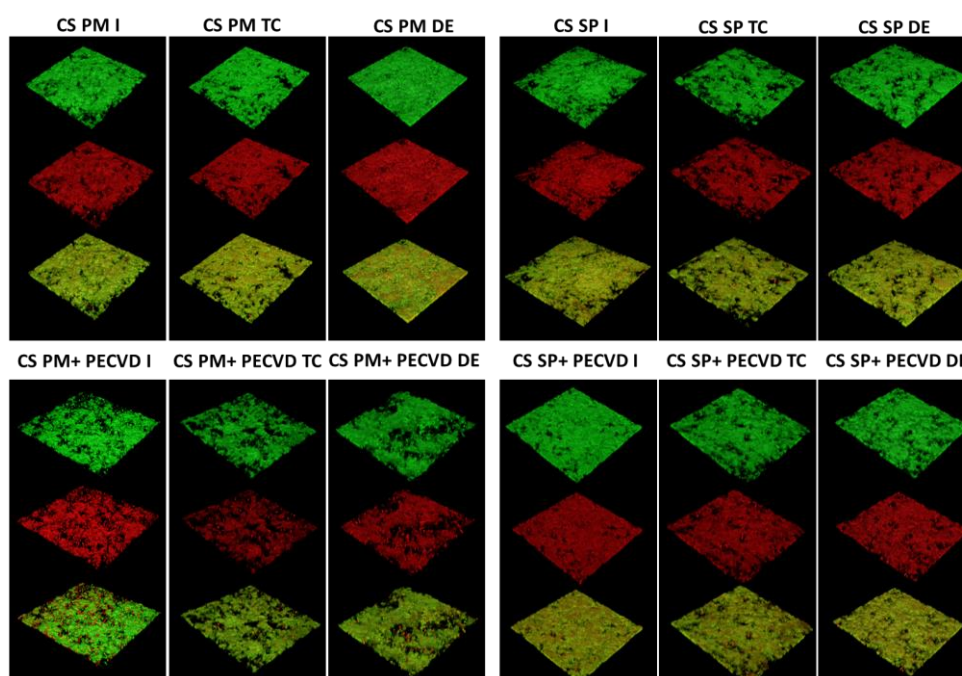
^{abc} Letras minúsculas diferentes na mesma linha denotam uma diferença significativa entre os períodos (T1 vs. T2) dentro do mesmo nível de tratamento ($P < 0,05$).

Fonte: Autor, 2024

5.3 Análise 3D do Biofilme por Microscopia Confocal a Laser (MC)

Na cerâmica Cerasmart (CS) pode-se visualizar maior quantidade biofilme no polimento P_M em comparação com o S_P , independente do envelhecimento. Ainda, quando o P_M foi associado ao PECVD houve menor quantidade de biofilme em comparação com o P_M isoladamente (Fig. 2).

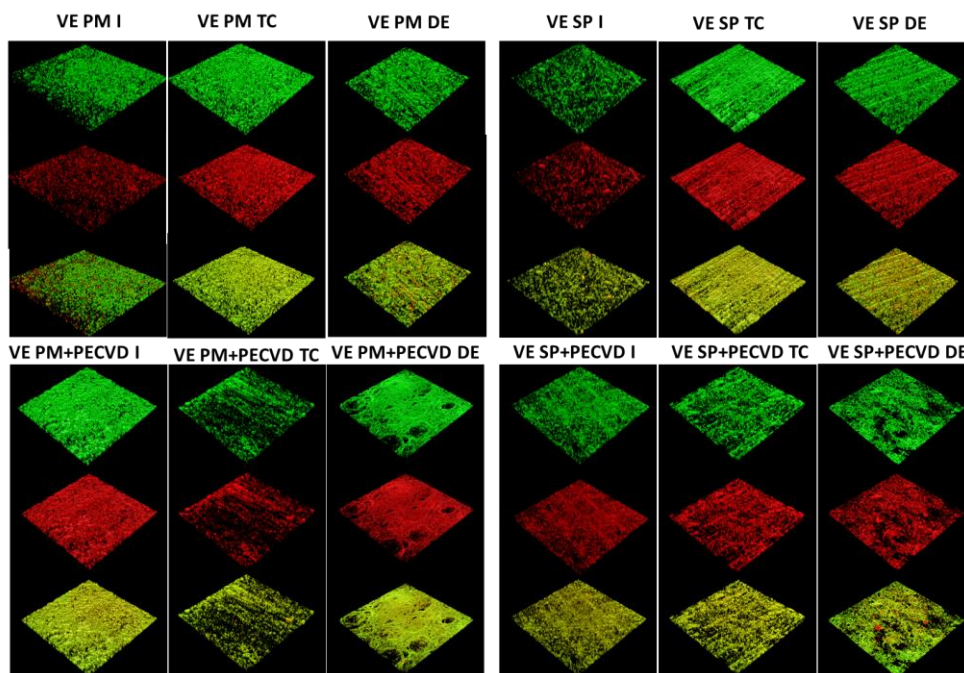
Figura 2 - Microscopia confocal a laser do biofilme misto de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície da cerâmica Cerasmart – GC (CS)



Fonte: Autor, 2024

Na cerâmica Enamic (EN) os grupos tratados com P_M e S_P apresentaram aumento do biofilme após os envelhecimentos (TC e DE), no entanto, quando esses tratamentos foram associados com a deposição de PECVD, demonstraram diminuição na adesão dos microrganismos, com áreas de crateras e ranhuras sem presença de biofilme (Fig.3).

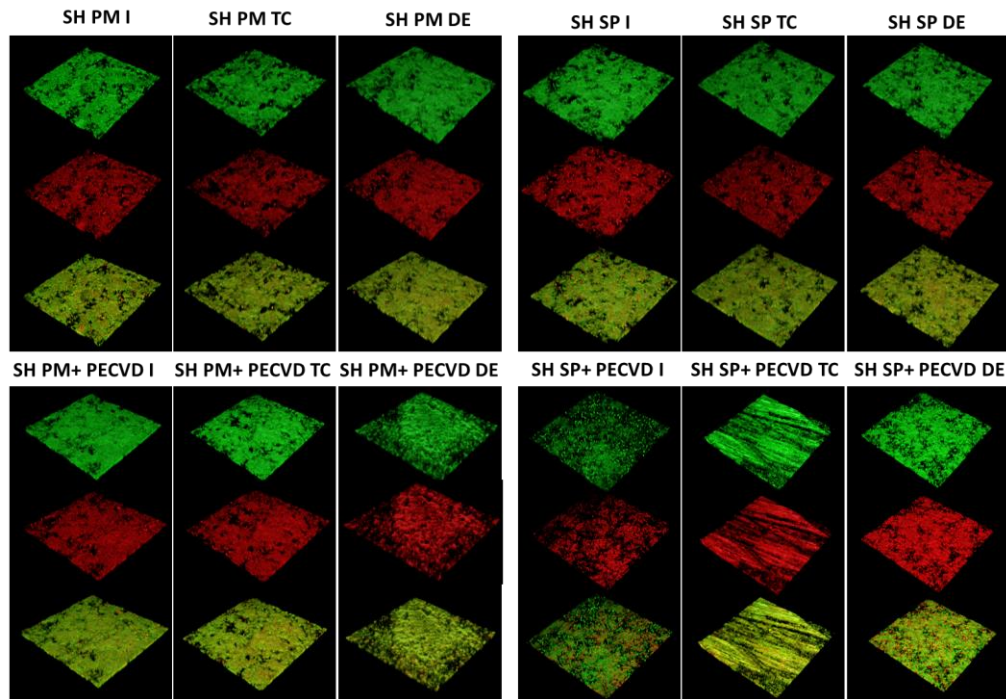
Figura 3 - Microscopia confocal a laser do biofilme misto de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície da cerâmica VITA Enamic – VITA (VE)



Fonte: Autor, 2024

Na cerâmica Shofu HC (SH), os grupos que receberam P_M , associado ou não a deposição de PECVD, demonstraram um ligeiro aumento na formação de biofilme após TC, no entanto, houve uma discreta diminuição após DE. Já o grupo que recebeu aplicação de selante, não ocorreu aumento na quantidade de biofilme após ambos os envelhecimentos, todavia, quando associado a PECVD verificou-se maior presença de microrganismos na superfície com evidenciação de ranhuras após TC.

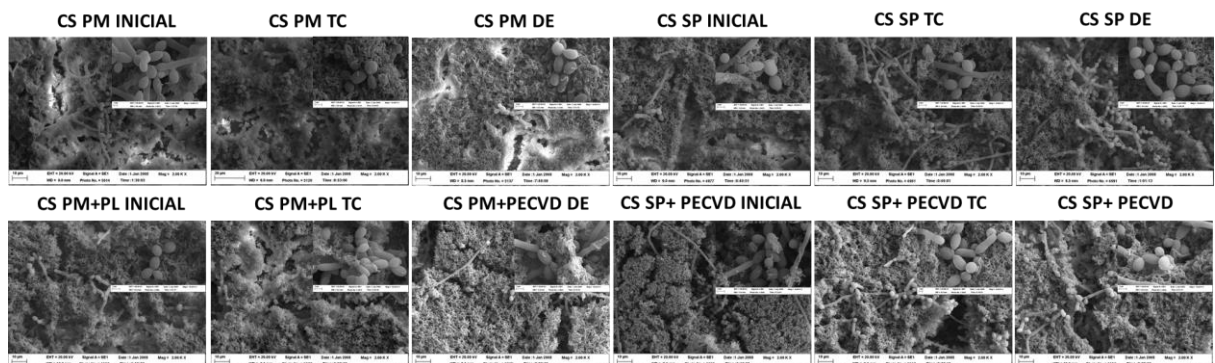
Figura 4 - Microscopia confocal a laser do biofilme misto de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície da cerâmica SHOFU HC – Shofu Dental (SH)



Fonte: Autor, 2024

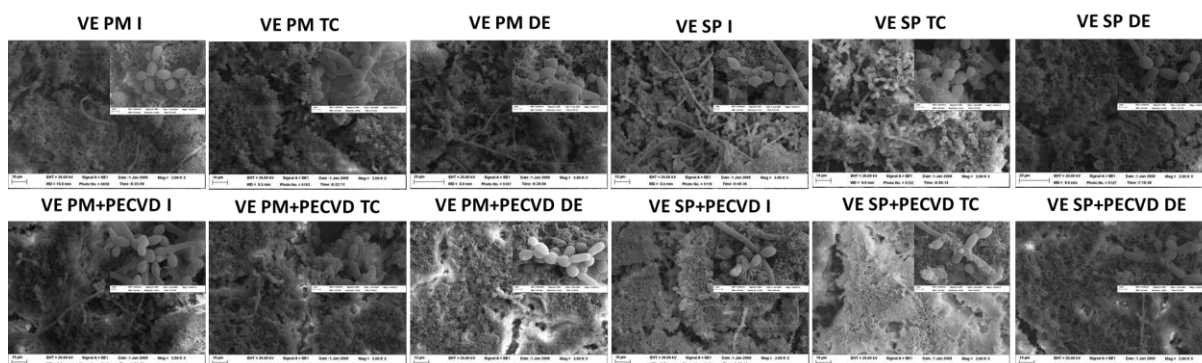
5.4 Análise da Estrutura dos Biofilmes por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura do biofilme misto de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície da cerâmica Cerasmart – GC (CS)



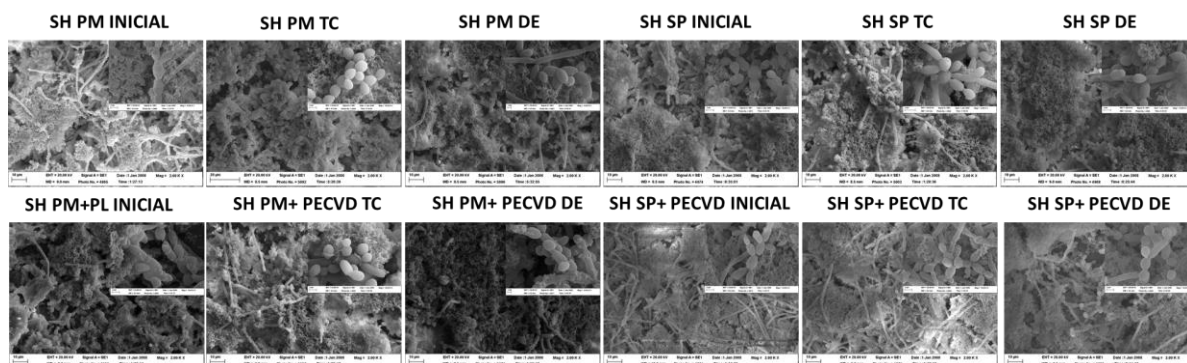
Fonte: Autor, 2024

Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura do biofilme misto de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície da cerâmica VITA Enamic – VITA (VE)



Fonte: Autor, 2024

Figura 7 - Microscopia eletrônica de varredura do biofilme misto de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície da cerâmica SHOFU HC – Shofu Dental (SH)



Fonte: Autor, 2024

Como observado nas imagens obtidas através da microscopia eletrônica de varredura (figuras 5, 6 e 7) a adesão de microrganismos e formação de biofilme se relacionou com os valores de resultados obtidos inerentes ao tratamento de superfície recebido, visto que os grupos que receberam como tratamento o polimento mecânico, associado ou não a aplicação de PECVD, apresentaram maiores valores de rugosidade e uma maior formação de biofilme nos períodos iniciais em todas as cerâmicas avaliadas. Quando observadas as imagens obtidas após os envelhecimentos é notável que houve um aumento da colonização dos microrganismos após DE em todos os grupos testados, demonstrando uma maior maturação do biofilme, apresentando uma maior quantidade de colônias e presença de hifas em sua superfície. Já em relação a termociclagem, a presença do biofilme se demonstrou similar as estruturas presentes nos grupos que receberam polimento mecânico (P_M e $P_M+PECVD$) nos períodos iniciais, no entanto, os grupos que receberam como tratamento a aplicação do selante, associado ou não a

aplicação de PECVD apresentaram um aumento na colonização dos microrganismos após TC, demonstrando uma maior maturação do biofilme.

6 DISCUSSÃO

A seleção da técnica de acabamento e polimento adequada para cada material restaurador é crucial para obter uma superfície lisa e brilhante, que se assemelhe às características naturais dos dentes⁴⁴. Além disso, a rugosidade e a topografia da superfície são determinantes para o sucesso a longo prazo das restaurações indiretas, influenciando na saúde periodontal, na adesão de biofilme, no possível manchamento da restauração e no desgaste abrasivo da dentição oposta^{4,5,8,15,18-27}. Neste estudo, a aplicação de selante de superfície, com ou sem PECVD, reduziu a rugosidade superficial em todas as cerâmicas com matriz resinosa, mesmo após diferentes envelhecimentos *in vitro*, independentemente dos envelhecimentos *in vitro* realizados. Isso refuta a hipótese nula 1 de que os envelhecimentos *in vitro* e os protocolos de polimento não afetariam a rugosidade superficial, pois houve diferenças na rugosidade entre os protocolos de polimento e aumento da rugosidade em alguns grupos após termociclagem ou desafio erosivo.

Os selantes de superfície foram desenvolvidos para reduzir a porosidade e corrigir microdefeitos em restaurações, resultando em superfícies lisas e com baixa rugosidade^{28,45}, como evidenciado neste estudo. A aplicação de selantes de superfície após o polimento era recomendada para aumentar a durabilidade das restaurações, melhorar a vedação marginal, reduzir manchas, prevenir microinfiltração e aumentar a resistência ao desgaste^{6,28,29}. No entanto, alguns estudos mencionam que a eficácia dos selantes em melhorar a qualidade das superfícies dos materiais restauradores a longo prazo ainda é controversa, devido a problemas como a formação de camadas não uniformes, resultando em descolamento do material e textura rugosa²⁹. As variações de temperatura durante a termociclagem podem contrair e expandir a camada de selante, levando à formação de microfissuras e à remoção de partículas não aderidas da superfície dos selantes^{6,30,46}. Apesar disso, apenas a cerâmica de silicato de lítio reforçada por zircônia apresentou um aumento significativo na rugosidade após termociclagem nos grupos que receberam selante de superfície.

Em relação ao desafio erosivo, os materiais restauradores cerâmicos sofrem erosão pela exposição ao ácido clorídrico, causando a lixiviação seletiva dos íons alcalinos⁴¹ e dissolução da matriz cristalina e resinosa⁴⁰, o que pode aumentar a rugosidade da superfície. Ainda, sabe-se que as alterações químicas na cavidade oral (como pH ácido) podem degradar a superfície dos selantes das cerâmicas com matriz resinosa⁴. No presente estudo, apenas na cerâmica

infiltrada por polímero houve aumento da rugosidade após desafio erosivo entre os grupos que tiveram aplicação de selante de superfície.

Já o polimento mecânico com pontas de borracha proporcionou superfícies lisas em todas as cerâmicas com matriz resinosa utilizadas neste estudo, sendo que todos os grupos apresentaram valores de rugosidade abaixo de $0,2\mu\text{m}$, considerado o valor limite de rugosidade para manter o acúmulo de biofilme clinicamente aceitável^{25,26,47}. Contudo, pode-se observar que a termociclagem gerou aumento significativo nos grupos com polimento mecânico das cerâmicas VE e SH, sabe-se que a imersão em água durante a termociclagem pode danificar a estrutura da matriz resinosa, causando microfissuras e porosidade, por meio da absorção de água na matriz resinosa causando aumento de volume da rede polimérica^{11,47,48}. Por outro lado, o desafio erosivo causou aumento na rugosidade das cerâmicas CS e SH. Acreditamos que a degradação do pH sobre a matriz resinosa dos materiais descritos acima, foi potencializada na superfície que não possui o selante como um protetor.

O tratamento com plasma age principalmente no aumento da molhabilidade da superfície e na alteração da rugosidade de superfície^{49,50}. No presente estudo, a deposição de filmes por vapor químico melhorado por plasma (PECVD) apresentou diminuição dos valores de rugosidade para os materiais submetidos ao P_M nas cerâmicas VE e SH antes dos envelhecimentos. O PECVD foi capaz de reduzir a degradação da superfície das cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM frente aos envelhecimentos realizados. O monômero de hexametildissiloxano (HMDSO) é capaz de formar uma camada de filme extremamente fino (nanômetros) de organossilício com alta hidrofobicidade e boa aderência à superfície dos materiais restauradores^{34,51,52}. Desse modo, o filme de vapor químico consegue se distribuir de forma homogênea pela superfície das cerâmicas preenchendo as ranhuras e defeitos superficiais, resultando em lisura de superfície^{33,34}. Além disso, acreditamos que a estrutura do filme produzido por HMDSO composta por metilsilil (Si-CH₃), dimetilsilil (Si-[CH₃]₂), trimetilsilil (Si-[CH₃]₃) e óxidos de silício, Si-O) são capazes de tornar a superfície superhidrofóbica, por meio da redução das forças eletrostáticas da superfície e, consequentemente, diminui ou impede a degradação das moléculas de água no material restaurador^{33,34,51-53}. Ainda, todos as cerâmicas tratadas com Sp+PECVD não apresentaram alterações na rugosidade após a termociclagem ou desafio erosivo, sugerindo a durabilidade desta combinação de tratamento mesmo após os envelhecimentos, no entanto, informações sobre a eficácia de selantes de superfície quando usados em cerâmicas com matriz de resina CAD/CAM ainda são escassas⁴.

No presente estudo, em relação às contagens de CFU de *S. mutans*, houve efeito significativo de interação entre termociclagem, desafio erosivo, composição do material e tratamento de superfície ($P < 0,05$) e entre tratamento de superfície, período de termociclagem e desafio erosivo para *C. albicans*, ($P < 0,05$), desse modo, a hipótese nula 2 foi rejeitada. Embora vários estudos afirmarem que a retenção de microrganismos está diretamente ligada à rugosidade superficial, visto que uma superfície mais rugosa tende a proporcionar um ambiente favorável para o acúmulo de biofilme^{10,19,22,25,54,55}, no entanto, neste estudo não foi possível observar a relação direta entre rugosidade e adesão de *S. mutans* e *C. albicans*, uma vez que, somente na cerâmica VE em T1 de ambos os envelhecimentos houve adesão de *S. mutans* similar aos resultados de rugosidade. Ainda, a associação $P_M + PECVD$ não reduziu a adesão de *S. mutans* e *C. albicans* como ocorreu nos valores de rugosidade, com exceção do grupo SH (*S. mutans* em T1) e *C. albicans* (T1).

Os biofilmes são ecossistemas complexos e, sob condições saudáveis, eles estão em equilíbrio com o hospedeiro¹⁰. Neste estudo, pode-se observar no que o CFU dos *S. mutans* foi superior aos da *C. albicans* após ambos os envelhecimentos. A quantidade de *Streptococcus mutans* no biofilme é extremamente importante, por ser considerado um dos os principais responsáveis pela formação de biofilmes cariogênicos, que consequentemente, pode levar a cárie secundária e falha das restaurações^{25,55}. As bactérias cariogênicas são comuns, mas *S. mutans* se destacam como o mais perigoso entre os estreptococos^{55,56}.

A comunidade bacteriana no ambiente bucal é muito ampla, os microrganismos interagem entre si, como acontece com o *S. mutans* e a *C. albicans* onde um favorece o crescimento do outro^{12,17,22}. Neste estudo, a *C. albicans* apresentou menores valores de CFU em comparação com a *S. mutans*, além disso, houve redução da quantidade de *C. albicans* após os envelhecimentos. Isso pode ter ocorrido, uma vez que, os maiores valores rugosidade obtidos no presente estudo foi de 0,18 μm , o que possivelmente dificultou a adesão de *C. albicans*, cujo tamanho varia entre 2 a 6 μm . Desse modo, há uma dificuldade dela se aderir e se manter nas superfícies polidas, sendo que os envelhecimentos podem causar o seu desprendimento da superfície¹⁷.

Apesar de ser conhecido e comprovado, que o aumento da rugosidade implica maior retenção bacteriana, neste estudo a adesão de microrganismos foi similar entre os tratamentos de superfície, provavelmente devido aos resultados de rugosidade de superfície favoráveis obtidos pelos tratamentos de superfície utilizados no estudo. Deve-se destacar que quando a superfície é considerada lisa ($Ra \leq 0,2 \mu m$), outros fatores contribuem de forma mais

significativa na adesão de microrganismos, tais como: as propriedades físico-químicas do material (composição química), hidrofobicidade de superfície, energia livre da superfície e comunicação entre os microrganismos existentes^{10,13,17,23,56,57}. Diante disso, outros estudos são necessários para avaliar os reais benefícios ou malefícios do uso de selantes e plasmas como tratamento de superfície das cerâmicas híbridas, principalmente, quando submetidos a outras condições adversas, isoladas e associadas.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que:

- O polimento com selante de superfície propiciou valores de Ra menores em comparação com o polimento mecânico em todas as cerâmicas com matriz resinosa.
- Não houve a relação direta entre rugosidade e a adesão de *S. mutans* e *C. albicans*.
- A aplicação de filme por vapor químico melhorado por plasma foi capaz de reduzir a degradação da superfície das cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM frente aos envelhecimentos realizados, principalmente, quando foi associado ao polimento mecânico.

REFERÊNCIAS

1. Gracis S, Thompson VP, Ferencz JL, Silva NRFA, Bonfante EA. A new classification system for all-ceramic and ceramic-like restorative materials. *Int J Prosthodont*. 2015;28(3):227–35.
2. El Zhawi H, Kaizer MR, Chughtai A, Moraes RR, Zhang Y. Polymer infiltrated ceramic network structures for resistance to fatigue fracture and wear. *Dent Mater*. 2016;32(11):1352-61.
3. Tabata LF, Lima Silva TA, Paula Silveira AC, Ribeiro APD. Marginal and internal fit of CAD-CAM composite resin and ceramic crowns before and after internal adjustment. *J Prosthet Dent*. 2020;123(3):500-5.
4. Çakmak G, Subaşı MG, Yilmaz B. Effect of thermocycling on the surface properties of resin-matrix CAD-CAM ceramics after different surface treatments. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;117:104401.
5. Tribst JPM, Dal Piva AMO, Werner A, Anami LC, Bottino MA, Kleverlaan CJ. Durability of staining and glazing on a hybrid ceramics after the three-body wear. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020;109:103856.
6. Dede DÖ, Şahin O, Koroglu A, Yilmaz B. Effect of sealant agents on the color stability and surface roughness of nanohybrid composite resins. *J Prosthet Dent*. 2016;116(1):119-28.
7. Castro EF, Azevedo VLB, Nima G, Andrade OS, Dias CTDS, Giannini M. Adhesion, mechanical properties, and microstructure of resin-matrix CAD-CAM ceramics. *J Adhes Dent*. 2020;22(4):421-31.
8. Acar O, Yilmaz B, Altintas SH, Chandrasekaran I, Johnston WM. Color stainability of CAD/CAM and nanocomposite resin materials. *J Prosthet Dent*. 2016;115(1):71-5.
9. Nishitani Shibusaki PA, Cavalli V, Oliveira MC, Barbosa JP, Gomes Boriollo MF, Marcondes Martins LR. Influence of surface treatment on the physical properties and biofilm formation of zirconia-reinforced lithium silicate ceramics: in vitro trial. *Int J Prosthodont*. 2023;36(4):460-8.
10. Ionescu AC, Hahnel S, König A, Brambilla E. Resin composite blocks for dental CAD/CAM applications reduce biofilm formation in vitro. *Dent Mater*. 2020 May;36(5):603-16.

11. Picolo MZD, Kury M, Romário-Silva D, Rosalen PL, Pecorari VGA, Gianinni M, Cavalli V. Effects of gastric acid and mechanical toothbrushing in CAD-CAM restorative materials: Mechanical properties, surface topography, and biofilm adhesion. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2023;138:105606.
12. Poole SF, Pitondo-Silva A, Oliveira-Silva M, Moris ICM, Gomes EA. Influence of different ceramic materials and surface treatments on the adhesion of *Prevotella intermedia*. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2020;111:104010.
13. Hao Y, Huang X, Zhou X, Li M, Ren B, Peng X, Cheng L. Influence of dental prosthesis and restorative materials interface on oral biofilms. *Int J Mol Sci.* 2018;19:3157.
14. Dobrzynski M, Pajaczkowska M, Nowicka J, Jaworski A, Kosior P, Szymonowicz M, Kuropka P, Rybak Z, Bogucki ZA, Filipiak J, Targonska S, Ciupa-Litwa A, Han A, Wiglusz RJ. Study of surface structure changes for selected ceramics used in the CAD/CAM System on the degree of microbial colonization, in vitro tests. *Biomed Res Int.* 2019;12:9130806.
15. Dal Piva A, Contreras L, Ribeiro FC, Anami LC, Camargo S, Jorge A, Bottino MA. Monolithic ceramics: effect of finishing techniques on surface properties, bacterial adhesion and cell viability. *Oper Dent.* 2018;43(3):315-25.
16. Hwang G, Liu Y, Kim D, Li Y, Krysan DJ, Koo H. *Candida albicans* mannans mediate *Streptococcus mutans* exoenzyme GtfB binding to modulate cross-kingdom biofilm development in vivo. *PLoS Pathog.* 2017;13:e1006407.
17. Contreras L, Dal Piva A, Ribeiro FC, Anami LC, Camargo S, Jorge A, Bottino MA. Effects of manufacturing and finishing techniques of feldspathic ceramics on surface topography, biofilm formation, and cell viability for human gingival fibroblasts. *Oper Dent.* 2018;43:593-601.
18. Tekçe N, Pala K, Tuncer S, Demirci M. The effect of surface sealant application and accelerated aging on posterior restorative surfaces: an SEM and AFM study. *Dent Mater J.* 2017;36(2):182-189.
19. Alao AR, Stoll R, Zhang Y, Yin L. Influence of CAD/CAM milling, sintering and surface treatments on the fatigue behavior of lithium disilicate glass ceramic. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021;113:10413.

20. Kurt M, Bankoğlu Güngör M, Karakoca Nemli S, Turhan Bal B. Effects of glazing methods on the optical and surface properties of silicate ceramics. *J Prosthodont Res.* 2020;64(2):202-9.
21. Kanat-Ertürk B. Color stability of CAD/CAM ceramics prepared with different surface finishing procedures. *J Prosthodont.* 2020;29(2):166-72.
22. Stamenković DD, Tango RN, Todorović A, Karasan D, Sailer I, Paravina RD. Staining and aging-dependent changes in color of CAD-CAM materials. *J Prosthet Dent.* 2021;126(5):672-8.
23. Cruz MEM, Simões R, Martins SB, Trindade FZ, Dovigo LN, Fonseca RG. Influence of simulated gastric juice on surface characteristics of CAD-CAM monolithic materials. *J Prosthet Dent.* 2020;123(3):483-90.
24. Sulaiman TA, Abdulmajeed AA, Shahramian K, Hupa L, Donovan TE, Vallittu P, Närhi TO. Impact of gastric acidic challenge on surface topography and optical properties of monolithic zirconia. *Dent Mater.* 2015;31(12):1445-52.
25. Özarslan M, Bilgili Can D, Avcioglu NH, Çalışkan S. Effect of different polishing techniques on surface properties and bacterial adhesion on resin-ceramic CAD/CAM materials. *Clin Oral Investig.* 2022 Aug;26(8):5289-99.
26. Siddanna GD, Valcanaia AJ, Fierro PH, Neiva GF, Fasbinder DJ. Surface Evaluation of Resilient CAD/ CAM ceramics after Contouring and Polishing. *J Esthet Restor Dent.* 2021;33:750–63.
27. Matzinger M, Hahnel S, Preis V, Rosentritt M. Polishing effects and wear performance of chairside CAD/CAM materials. *Clin Oral Investig.* 2019 Feb;23(2):725-37.
28. AlBin-Ameer MA, Alsrheed MY, Aldukhi IA, Matin A, Khan SQ, Abualsaud R, Gad MM. Effect of protective coating on surface properties and candida albicans adhesion to denture base materials. *J Prosthodont.* 2020;29(1):80-6.
29. Gurbuz O, Cilingir A, Dikmen B, Ozsoy A, Mert Eren M. Effect of surface sealant on the surface roughness of different composites and evaluation of their microhardness. *Eur Oral Res.* 2020;54(1):1-8.
30. Bitencourt SB, Piacenza LT, Souza JPDV, Silva EVF, Rangel EC, Barão VAR, Goiato MC, Santos DM. The effect of different plasma treatments on the surface properties and bond strength between lithium disilicate and resin cement. *J Adhes Dent.* 2020;22(5):531-8.

31. Adımcı P, İbiş F, Ercan UK, Bagis B. Evaluation of effects of non-thermal plasma treatment on surface properties of CAD/CAM materials. *J Adhes Scid Technol*. 2019;33:35-49.
32. Santos D, Vechiato-Filho A, Pesqueira A, Guiotti A, Rangel E, Cruz N, Goiato M. Effect of nonthermal plasma treatment on the surface of dental resins immersed in artificial saliva. *J Polymer Eng*. 2016;36(8):785-93.
33. Vechiato Filho AJ, Santos DM, Goiato MC, Medeiros RA, Moreno A, Bonatto LR, Rangel EC. Surface characterization of lithium disilicate ceramic after nonthermal plasma treatment. *J Prosthet Dent*. 2014;112(5):1156-63.
34. dos Santos D, Vechiato-Filho A, Pesqueira A, Guiotti A, Rangel E, da Cruz N, Goiato M. Effect of nonthermal plasma treatment on the surface of dental resins immersed in artificial saliva. *Journal of Polymer Engineering*. 2016;36(8): 785-793
35. Al-Thobity AM, Gad MM, Farooq I, Alshahrani AS, Al-Dulaijan YA. Acid Effects on the physical properties of different CAD/CAM ceramic materials: an in vitro analysis. *J Prosthodont*. 2021;30(2):135-41.
36. Koçak EF, Ekren O, Johnston WM, Uçar Y. Analysis of color differences in stained contemporary esthetic dental materials. *J Prosthet Dent*. 2021;126(3):438-45.
37. Quek SHQ, Yap AUJ, Rosa V, Tan KBC, Teoh KH. Effect of staining beverages on color and translucency of CAD/CAM composites. *J Esthet Restor Dent*. 2018;30(2):9-17.
38. Kulkarni A, Rothrock J, Thompson J. Impact of gastric acid induced surface changes on mechanical behavior and optical characteristics of dental ceramics. *J Prosthodont*. 2020;29(3):207-18.
39. Alnasser M, Finkelman M, Papathanasiou A, Suzuki M, Ghaffari R, Ali A. Effect of acidic pH on surface roughness of esthetic dental materials. *J Prosthet Dent*. 2019;122(6):567.e1-8.
40. Harryparsad A, Dullabh H, Sykes L, Herbst D. The effects of hydrochloric acid on all-ceramic restorative materials: an in-vitro study. *SADJ*. 2014;69(3):106-111.
41. Lamfon H, Porter SR, McCullough M, Pratten J. Formation of *Candida albicans* biofilms on non-shedding oral surfaces. *Eur J Oral Sci*. 2003;111(6):465-71.
42. Souza, J. G. S.; Lima, C. V.; Costa Oliveira, B. E.; Ricomini-Filho, A. P.; Faveri, M.; Sukotjo, C.; Feres, M.; Del Bel Cury, A. A.; Barao, V. A. R. Dose-Response Effect of

Chlorhexidine on a Multispecies Oral Biofilm Formed on Pure Titanium and on a Titanium-Zirconium Alloy. *Biofouling* 2018, 34, 1175-1184.

43. Souza, J. G. S.; Beline, T.; Matos, A. O.; Costa Oliveira, B. E.; Ricomini-Filho, A. P.; Barão, V. A. R. Electrochemical Behavior of Titanium Exposed to a Biofilm Supplemented with Different Sucrose Concentrations. *J. Prosthet. Dent.* 2018, 120, 290-298.

44. Kilinc H, Turgut S. Optical behaviors of esthetic CAD-CAM restorations after different surface finishing and polishing procedures and UV aging: an in vitro study. *J Prosthet Dent.* 2018;120(1):107-113.

45. Köroğlu A, Sahin O, Dede DÖ, Yilmaz B. Effect of different surface treatment methods on the surface roughness and color stability of interim prosthodontic materials. *J Prosthet Dent.* 2016;115(4):447-55.

46. Lima AF, Soares GP, Vasconcellos PH, Ambrosano GM, Marchi GM, Lovadino JR, et al. Effect of surface sealants on microleakage of Class II restorations after thermocycling and long-term water storage. *J Adhes Dent* 2011;13:249-54.

47. Kim SH, Choi YS, Kang KH, Att W. Effects of thermal and mechanical cycling on the mechanical strength and surface properties of dental CAD-CAM restorative materials. *J Prosthet Dent.* 2022;128(1):79-88.

48. Lauvahutanon S, Takahashi H, Shiozawa M, Iwasaki N, Asakawa Y, Oki M, Finger WJ, Arksornnukit M. Mechanical properties of composite resin blocks for CAD/CAM. *Dent Mater J.* 2014;33(5):705-10.

49. Bötzel F, Zimmermann T, Sütel M, Müller WD, Schwitalla AD. Influence of different low-pressure plasma process parameters on shear bond strength between veneering composites and PEEK materials. *Dent Mater.* 2018;34(9):e246-e254.

50. Tsougeni K, Vourdas N, Tserepi A, Gogolides E, Cardinaud C. Mechanisms of oxygen plasma nanotexturing of organic polymer surfaces: from stable super hydrophilic to super hydrophobic surfaces. *Langmuir.* 2009;25(19):11748-59

51. Zamperini CA, Machado AL, Vergani CE, Pavarina AC, Rangel EC, Cruz NC. Evaluation of fungal adherence to plasma-modified polymethylmethacrylate. *Mycoses.* 2011;54(5):e344-51.

52. Zamperini CA, Carneiro Hde L, Rangel EC, Cruz NC, Vergani CE, Machado AL. In vitro adhesion of *Candida glabrata* to denture base acrylic resin modified by glow-discharge plasma treatment. *Mycoses*. 2013;56(2):134-44.
53. Rangel RCC, Pompeu TC, Barros Jr JLS, Antonio CA, Santos NM, Pelici BO, Freire CMA, Cruz NC, Rangel EC. Improvement of the Corrosion Resistance of Carbon Steel by Plasma Deposited Thin Films, 1st ed., Rijeka: Croatia, 2012.
54. O'Brien EP, Mondal K, Chen CC, Hanley L, Drummond JL, Rockne KJ. Relationships between composite roughness and *Streptococcus mutans* biofilm depth under shear in vitro. *J Dent*. 2023;134:104535.
55. Alqarni D, Nakajima M, Tagami J, Alzahrani MS, Sá-Pinto AC, Alghamdi A, Hosaka K, Alzahrani F, Alsadon OA, Alharbi RA, Almalki SS, Alzahrani AAH. Study of streptococcus mutans in early biofilms at the surfaces of various dental composite resins. *Cureus*. 2023;15(4):e38090.
56. Daabash R, Alqahtani MQ, Price RB, Alshabib A, Niazy A, Alshaafi MM. Surface properties and *Streptococcus mutans* biofilm adhesion of ion-releasing resin-based composite materials. *J Dent*. 2023;134:104549.
57. Nedeljkovic I, De Munck J, Ungureanu AA, Slomka V, Bartic C, Vananroye A, Clasen C, Teughels W, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Biofilm-induced changes to the composite surface. *J Dent*. 2017;63:36-43.

ANEXO – PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – HUMANOS

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização do biofilme formado sobre cerâmicas com matriz resinosa para CAD/CAM, submetidas a diversos protocolos de polimento associados ou não a deposição de plasma de baixa temperatura e diferentes envelhecimentos in vitro

Pesquisador: Aldiéris Alves Pesqueira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 79049224.6.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.789.652

Apresentação do Projeto:

A Folha de Rosto encontra-se devidamente preenchida, datada e assinada pelo pesquisador e pelo responsável pela instituição proponente, tratando-se de pessoas distintas que não configuram conflito de interesse. O principal patrocinador do projeto é a instituição, na qual o pesquisador tem vínculo empregatício. A Grande Área de Conhecimento (CNPq) está corretamente assinalada, correspondendo às Ciências da Saúde, e não se aplica área temática especial. O trabalho ocorrerá no território brasileiro em uma única instituição, havendo a necessidade do parecer do CEP e apresentação do TCLE para a sua execução, pois no desenho de estudo há doação de material biológico (saliva) de 3 voluntários convidados. As amostras coletadas não serão armazenadas em banco de material biológico. Consta nas informações básicas do projeto que a pesquisa se iniciará em 01/05/2024, descrevendo sucintamente as etapas a serem desenvolvidas em cada período. Portanto, a data de início do estudo não é anterior à tramitação no Sistema CEP/Conep, e as referidas etapas são compatíveis com o projeto proposto, a saber: atualização bibliográfica, estudo piloto e adequação metodológica, confecção dos materiais a serem pesquisados e finalização com análise dos resultados. Não há detalhamento de orçamento da pesquisa, porém foi apresentado um valor estimado de custo.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3234

Fax: (18)3636-3203

E-mail: cep.foa@unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 6.789.652

Objetivo da Pesquisa:

A pesquisa tem por objetivo o estudo in vitro do biofilme formado sobre cerâmicas e resina de materiais odontológicos, tratados por protocolos variados de polimento e selamento de superfícies, bem como por procedimentos in vitro de envelhecimento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos ou benefícios diretos envolvendo seres humanos, pois trata-se de doação de saliva de 3 voluntários convidados. Não consta no projeto detalhado qualquer procedimento invasivo para a coleta do material doado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa consiste em estudar in vitro o biofilme formado sobre cerâmicas e resina de materiais odontológicos após a aplicação de protocolos variados de polimento e selamento de superfícies, e procedimentos de envelhecimento desses materiais. Não há envolvimento direto de seres humanos como meio de pesquisa, mas apenas a doação de saliva (volume de 24mL) de 3 voluntários convidados, para se produzir in vitro uma película salivar sobre as amostras das cerâmicas e resina estudadas. Portanto, não há formação de grupos experimentais humanos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apenas o TCLE é necessário para o desenvolvimento da pesquisa. O material biológico coletado será composto por saliva, que não será armazenada em biobanco ou repositório. O TCLE apresentado segue o modelo sugerido por este comitê de ética em sua página eletrônica.

Recomendações:

Nada a recomendar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo de pesquisa apto para aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/10/2024.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3234

Fax: (18)3636-3203

E-mail: cep.foa@unesp.br

**UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"**



Continuação do Parecer: 6.789.652

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2321891.pdf	12/04/2024 15:42:46		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	12/04/2024 15:41:29	Kevin Henrique Cruz	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.pdf	12/04/2024 15:40:24	Kevin Henrique Cruz	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	12/04/2024 14:53:32	Kevin Henrique Cruz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consentimento.pdf	12/04/2024 14:53:24	Kevin Henrique Cruz	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 26 de Abril de 2024

Assinado por:
André Pinheiro de Magalhães Bertoz
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3234

Fax: (18)3636-3203

E-mail: cep.foa@unesp.br