



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

CLARICE FERREIRA SABINO

**EFEITO ANTIMICROBIANO E PROPRIEDADES MECÂNICAS DA
ZIRCÔNIA TRANSLÚCIDA REVESTIDA POR VIDROS
EXPERIMENTAIS**

2023

CLARICE FERREIRA SABINO

**EFEITO ANTIMICROBIANO E PROPRIEDADES MECÂNICAS DA ZIRCÔNIA
TRANSLÚCIDA REVESTIDA POR VIDROS EXPERIMENTAIS**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Prótese dentária. Linha de pesquisa: Cerâmicas odontológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Marques de Melo Marinho

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Sabino, Clarice Ferreira

Efeito antimicrobiano e propriedades mecânicas da zircônia translúcida revestida por vidros experimentais / Clarice Ferreira Sabino. - São José dos Campos : [s.n.], 2023.
60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.

Orientadora: Renata Marques de Melo Marinho.

1. Cerâmica dentária. 2. Falha de restauração dentária. 3. Biofilme. 4. Resistência do material. 5. Vidro. I. Marinho, Renata Marques de Melo, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A zircônia é usada para fabricar próteses fixas devido à sua resistência mecânica relativamente alta e tenacidade à fratura. No entanto, carece de translucidez, o que compromete suas aplicações em regiões anteriores. Adicionar 5% mol de ítria à zircônia (5Y-PSZ) melhora a transmissão de luz, mas afeta suas propriedades mecânicas. Clinicamente, as restaurações cerâmicas falham principalmente devido a fraturas catastróficas e cáries secundárias. Os revestimentos de vidro podem aumentar com eficiência a resistência da zircônia. O boro é adicionado aos vidros de silicato para melhorar o módulo de elasticidade do material e pode apresentar atividade antimicrobiana. Neste estudo, desenvolvemos um revestimento contendo boro (BCoat) para aumentar o desempenho mecânico e fornecer recursos antimicrobianos para 5Y-PSZ. Através dos testes realizados, concluímos que BCoat foi capaz de melhorar as propriedades mecânicas e a confiabilidade do 5Y-PSZ. Além disso, os biofilmes sobre BCoat eram pouco desenvolvidos, finos e fragmentados com o menor número de colônias viáveis, atividade metabólica e matriz extrapolimérica. Desta forma, 5Y-PSZ revestida pelo vidro experimental contendo boro é um material antimicrobiano citocompatível promissor para melhorar as propriedades mecânicas de cerâmicas translúcidas.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Zirconia is used to fabricate fixed prostheses due to its relatively high mechanical strength and fracture toughness. However, it lacks translucency, which compromises its applications in anterior regions. Adding 5% mol of yttria to zirconia (5Y-PSZ) improves light transmittance but affects its mechanical properties. Clinically, ceramic restorations fail mainly because of catastrophic fractures and secondary caries. Glass coatings can efficiently enhance the strength of zirconia. Boron is added to silicate glasses to improve the elastic modulus and can present antimicrobial activity. Herein, we developed a boron-containing coating (BCoat) to increase the mechanical performance and provide antimicrobial capabilities to 5Y-PSZ. BCoat was able to enhance 5Y-PSZ's mechanical properties and reliability. Moreover, biofilms on BCoat's were poorly developed, with the lowest number of viable colonies, metabolic activity, and extrapolymeric matrix. Thus, 5Y-PSZ coated by BCoat is a promising cytocompatible antimicrobial material to improve the mechanical properties of ultra-translucent ceramics.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Marques de Melo Marinho (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Susana M. Salazar Marocho

University of Mississippi

Medical Center

School of Dentistry

São José dos Campos, 3 de julho de 2023.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Professora Doutora Cláudia de Vilhena Schayer Sabino, também conhecida como minha avó, que plantou a semente da ciência e da pesquisa no meu coração.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meu sincero agradecimento a todos que contribuíram para a realização desta dissertação de mestrado.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me conceder saúde, sabedoria, força e perseverança necessária ao longo desta jornada acadêmica.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, minha casa de formação na graduação e na pós-graduação, e à Universidade Nacional de Singapura, na qual fiz uma parte da pesquisa desta dissertação, na figura de todos os professores e funcionários. Agradeço o ambiente acadêmico propício à aprendizagem, às oportunidades de pesquisa e à infraestrutura oferecida. Fui privilegiada por fazer parte dessa comunidade acadêmica inspiradora.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal, onde fiz amigos e tive a oportunidade de aprender com grandes profissionais da Docência e Pesquisa.

Aos meus orientadores, **Pesquisadora II Dra. Renata Marques de Melo Marinho** e **Prof. Dr. Vinicius Rosa**, expresso minha profunda gratidão. Sua orientação e dedicação foram essenciais para o sucesso deste trabalho. Agradeço por compartilharem seu tempo, paciência e expertise, guiando-me no desenvolvimento desta dissertação. Sou imensamente grata pela confiança depositada em mim e pela oportunidade de ser orientada por vocês.

À minha banca examinadora, Profa. Dra. Luana Marotta Reis de Vasconcellos e Prof. Dra. Susana M. Salazar Marocho, que participarão deste momento tão importante de minha formação.

À minha amada família. Vocês são a minha fortaleza, meu Norte e a minha sorte. Sou imensamente grata pelo apoio incondicional, encorajamento e compreensão que me ofereceram ao longo dos anos:

À minha mãe, **Cinthia**, pelo amor e pela força, que apesar da distância, se manteve presente diariamente. Obrigada por acreditar em mim.

Ao meu pai, **Ricardo**, pelo exemplo de dedicação e rigor, sempre me incentivando e torcendo por mim em cada conquista.

Aos meus irmãos, **Sophia e Raphael**, que me inspiram todos os dias e são o amor da minha vida.

Ao meu avô, **Jorge**, que não passou um dia durante todo o meu mestrado sem me telefonar e perguntar se “eu ainda estava na escola”. E eu estava.

À minha avó, **Cida** (*in memoriam*), que me incentivou desde a infância a seguir os meus sonhos.

Aos meus avós, **Cael e Cláudia**, por todo o carinho, apoio e entusiasmo.

Ao meu noivo, **Bram**, pelo amor, suporte, companheirismo e incentivo.

Aos meus colegas da pós-graduação, agradeço por serem uma fonte constante de apoio e inspiração. Nossas discussões, troca de ideias e colaboração enriqueceram minha experiência acadêmica. Valorizo imensamente os laços que construímos e agradeço por estarem sempre dispostos a ajudar. Em especial, agradeço aos **Renatetes**: Carol, Camila, Tiago, Amanda e Amir; e aos **Nobel's to be**: Priti, Shruti, Lekshmi, Baiqing e Deby. Vocês foram muito especiais na minha trajetória e torço pelo sucesso de cada um.

Ao **Tanaka**, que devido ao senso de humor do destino, acabou sendo minha dupla de atendimento na graduação e não conseguiu se livrar de mim durante a pós. Obrigada por ser meu amigo.

Por fim, gostaria de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro concedido para a realização desta pesquisa e do meu período de estágio no exterior através dos processos nº 2021/00748-1 e 2022/03273-7. Sua contribuição foi essencial para a concretização deste estudo e para o avanço do conhecimento científico em nossa sociedade.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, meu mais sincero agradecimento. Sua dedicação, apoio e influência positiva tornaram possível a conclusão desta dissertação de mestrado. Sou grato por cada pessoa que fez parte desta jornada e espero que o resultado deste trabalho contribua de forma significativa para a prótese dentária.

"Toda vez que eu dou um passo o mundo sai do lugar."

Marcelo D2

RESUMO

Sabino CF. Efeito antimicrobiano e propriedades mecânicas da zircônia translúcida revestida por vidros experimentais [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

Objetivos: Avaliar as propriedades mecânicas, atividade antimicrobiana e citocompatibilidade da zircônia translúcida 5Y-PSZ revestida por vidros experimentais contendo boro e prata. **Métodos:** Discos 5Y-PSZ (KATANA UTML™, Kuraray Noritake) foram processados e divididos em quatro grupos: polido, sem nenhum revestimento (Controle), aplicação de glaze comercial (Glaze) e vidros experimentais contendo prata (AgCoat) e boro (BCoat). As amostras foram submetidas aos testes de dureza Vickers, testes de flexão biaxial, análise fractográfica e rugosidade através de perfilometria óptica. O potencial antimicrobiano foi caracterizado usando biofilmes de espécie única de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. Foi realizada a quantificação de unidades viáveis formadoras de colônias (UFC), atividade metabólica (CV), ensaios de matriz polissacarídica extracelular (EPS) e biovolume. Biofilmes foram visualizados por microscópio eletrônico de varredura (MEV) e microscopia confocal de varredura a laser (CLSM). A citocompatibilidade foi determinada usando os testes WST-1 e LIVE&DEAD usando células-tronco do ligamento periodontal (PDLSCs) por 24 h. Todas as caracterizações biológicas foram realizadas em triplicatas técnicas e biológicas usando amostras independentes. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA de uma via, teste de Tukey, análise de Weibull e análise de correlação de Pearson. **Resultados:** BCoat, AgCoat e Glaze alcançaram dureza semelhante, que foi menor que o Controle. BCoat teve a maior resistência à flexão e parâmetros de Weibull ($m = 11,5$, s_F 625 MPa, s_0 620) seguido por AgCoat ($m = 5,3$; s_F 464 MPa, s_0 478 MPa). BCoat diminuiu significativamente a formação de biofilmes, conforme mostrado pela menor UFC (5,94 log-UFC/mm²) e atividade metabólica (0,17 a.u.) em comparação com os outros grupos (AgCoat: 6,44 log-UFC/mm², 0,89 a.u.; Glaze: 6,81 log -UFC/mm², 1,21 a.u.; Controle: 6,82 log-UFC/mm², 1,25 a.u.). BCoat e AgCoat apresentaram os menores valores de EPS (0,11 a.u.), seguidos por Glaze e Controle (0,13 a.u.; 0,14 a.u., respectivamente). MEV e CLSM revelaram que os biofilmes no BCoat eram finos, esparsos, com menor biovolume, enquanto os outros grupos produziram biofilmes robustos com maior biovolume. Os ensaios de viabilidade celular não mostraram toxicidade para PDLSCs para todos os grupos. **Conclusão:** 5Y-PSZ revestida por vidro experimental contendo boro surge como uma estratégia potencial para melhorar as propriedades mecânicas e antimicrobianas do material.

Palavras-chave: cerâmica dentária; falha de restauração dentária; biofilme; resistência do material; vidro; resistência à flexão.

ABSTRACT

Sabino CF. *Antimicrobial effect and mechanical properties of translucent zirconia coated with experimental glasses [dissertation].* São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

Objectives: To evaluate the mechanical and antimicrobial properties of boron-containing coating on translucent zirconia (5Y-PSZ). **Methods:** 5Y-PSZ discs (Control) were coated with a glaze (Glaze), silver- (AgCoat), or boron-containing (BCoat) glasses. The coatings' antimicrobial potential was characterized using *S. mutans* and *C. albicans* biofilms through viable colony-forming units (CFU), metabolic activity (CV), and the extracellular polysaccharide matrix (EPS). Biofilm architectures were imaged under scanning electron and confocal laser scanning microscopies (SEM and CLSM). Cytocompatibility was determined at 24 h via WST-1 and LIVE&DEAD assays using periodontal ligament stem cells (PDLSCs). The coatings' effects on mechanical properties were characterized by Vickers hardness, biaxial bending tests, and fractography analysis. Statistical analyses were performed via one-way ANOVA, Tukey's tests, Weibull analysis, and Pearson's correlation analysis. **Results:** BCoat significantly decreased biofilm formation, having the lowest CFU and metabolic activity compared with the other groups. BCoat and AgCoat presented the lowest EPS, followed by Glaze and Control. SEM and CLSM images revealed that the biofilms on BCoat were thin and sparse, with lower biovolume. In contrast, the other groups all yielded similarly robust biofilms with higher biovolume without compromising PDLSC viability. BCoat, AgCoat, and Glaze also presented similar hardness significantly lower than Control. BCoat had the highest flexural strength, characteristic strength and Weibull parameters (s_F : 625 MPa; s_0 : 620 MPa; $m = 11.5$), followed by AgCoat (s_F : 464 MPa; s_0 : 478 MPa; $m = 5.3$). **Significance:** BCoat is a cytocompatible glass with promising antimicrobial properties that can improve the mechanisms and reliability of 5Y-PSZ.

Keywords: dental ceramics; dental restoration failure; biofilm; material resistance; glass; flexural strength.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Preparação das amostras	23
4.1.1 Confeção dos espécimes	23
4.1.2 Fabricação dos vidros experimentais	25
4.2 Caracterização mecânica	26
4.2.1 Teste de dureza	26
4.2.2 Teste de flexão biaxial	26
4.2.3 Fractografia	27
4.2.4 Rugosidade.....	27
4.3 Testes microbiológicos	28
4.3.1 Cultura microbiana	28
4.3.2 Formação de biofilme <i>in vitro</i>	29
4.3.3 Teste de Unidades Formadoras de Colônia (UFC)	29
4.3.4 Teste de Cristal Violeta (CV)	30
4.3.5 Análise de Matriz Polissacarídica Extracelular (EPS)	31
4.3.6 Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM)	32
4.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	32
4.4 Citocompatibilidade	33

4.4.1 WST-1	33
4.4.2 Teste LIVE&DEAD	33
4.5 Análise estatística	34
5 RESULTADOS	35
5.1 Caracterização mecânica	35
5.2 Propriedades antimicrobianas: <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i>	40
5.3 Citocompatibilidade	47
6 DISCUSSÃO	48
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Fraturas catastróficas e cáries secundárias são as principais razões de falha das restaurações cerâmicas odontológicas (Zhang,Lawn, 2018). A falha ocorre devido à degradação do material (fadiga) acelerada pela água e carga oclusal (Koenig et al., 2019), bem como devido à deterioração da interface dente/restauração por microrganismos patogênicos (Hao et al., 2018). *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, uma das principais bactérias cariogênicas e o agente causador da candidíase oral, respectivamente, modulam a formação de biofilmes virulentos (Khoury et al., 2020; Koo et al., 2010). Estes microrganismos têm um papel preponderante na degradação da integridade da margem da restauração da cerâmica (Jakubovics et al., 2021), afetando sua longevidade, deteriorando a cimentação adesiva e contribuindo para o surgimento e progressão de cáries secundárias (Matsumoto-Nakano, 2018).

Entre os materiais cerâmicos, os policristais de zircônia tetragonal estabilizada com 3 mol% de ítria (3Y-TZP) se destacam devido à sua alta tenacidade à fratura e resistência à flexão (Zhang,Lawn, 2019). No entanto, estudos anteriores relataram o parâmetro de translucidez (TP) do 3Y-TZP variando entre 20 e 25 (Čokić et al., 2022), o que é muito menor do que os valores apresentados pelas vitrocerâmica (TP = 37-52), comprometendo suas aplicações na região anterior (Reyes et al., 2019.). Uma estratégia para melhorar a transmissão de luz da zircônia depende do aumento de sua quantidade de fase cúbica não birrefringente e da adição de 5 mol% de ítria (5Y-PSZ) para estabilizá-la parcialmente (Zhang,Lawn, 2018). Como resultado, o parâmetro de translucidez de 5Y-PSZ foi relatado entre 28 e 35 (Kolakarnprasert et al., 2019). Por outro lado, uma vez que o conteúdo cúbico aumenta, as propriedades mecânicas do 5Y-PSZ diminuem (Mao et al., 2018).

Embora a modificação química induzida em 5Y-PSZ possa conferir propriedades ópticas promissoras (Vila-Nova et al., 2020), ela não descarta a necessidade da aplicação de revestimentos vítreos, como o glaze, na superfície de restaurações monolíticas de zircônia (Schünemann et al., 2019). O glazeamento proporciona um acabamento estético mais suave e potencialmente diminui a adesão bacteriana e a formação de biofilme (Lai et al., 2017). Infelizmente, isso pode afetar

as propriedades mecânicas do 5Y-PSZ, como visto em Deng et al., 2017, onde a resistência à flexão da zircônia passou de 822,96 MPa para 576,83 MPa quando vitrificada (Arcila et al., 2021). Portanto, o desenvolvimento de revestimentos que possam melhorar as propriedades mecânicas e conferir propriedades antimicrobianas a 5Y-PSZ é de grande interesse (Vila-Nova et al., 2020).

Revestimentos de vidro parecem ser uma alternativa viável, uma vez que a composição do vidro pode ser modificada para atingir propriedades específicas (Stawarczyk et al., 2017). Uma estratégia que pode fornecer potencial antimicrobiano aos vidros é a adição de compostos metálicos de prata à sua composição (Morones et al., 2005). Porém, apesar de vidros dopados com prata apresentarem efeitos antimicrobianos (Bapat et al., 2018), eles também podem afetar células humanas e promover citotoxicidade (Chernousova, Epple, 2013).

Uma outra possibilidade é a adição de boro na composição do vidro de recobrimento. Zhu et al, 2018, relataram que quantidades maiores (~10w%) de boro adicionadas às composições de vidro do sistema $\text{CaO-B}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$ resultaram em maior resistência à flexão (Zhu et al., 2009). O óxido bórico é descrito como um importante material de fluxo para formar uma rede de vidro (Shofri et al., 2020). A fase líquida que ocorre no processo de queima do vidro dopado com B_2O_3 pode reduzir a porosidade interna, tensões residuais térmicas e microtrincas na matriz, o que melhora o comportamento mecânico quando comparado aos vidros sem adição de boro (Kang et al., 2023). Além disso, os compostos de boro, teoricamente, têm um efeito biológico contra o biofilme, ligando-se aos grupos cis-hidroxila encontrados na membrana celular da bactéria (Bhasker et al., 2016). Além disso, os efeitos antioxidantes, antienzimáticos e de oxidação eletroquímica dos compostos de boro podem induzir a ruptura da matriz do biofilme pela inibição do quorum sensing (Temel et al., 2023), também conhecido como mecanismo de comunicação bacteriana, que regula sua patogenicidade e virulência (Bassler, Losick, 2006). A combinação entre melhorar as propriedades mecânicas da zircônia translúcida e promover ação antimicrobiana torna os vidros contendo boro uma opção interessante para a reabilitação oral.

Embora os revestimentos vítreos tenham sido associados a melhores propriedades mecânicas do material sobre o qual são aplicados (Campos et al., 2016), ainda há poucas informações sobre como esse tratamento afeta as propriedades mecânicas da 5Y-PSZ. Além disso, entender os mecanismos subjacentes ao potencial

antibiofilme de revestimentos vítreos contendo boro pode levar ao desenvolvimento de restaurações de zircônia translúcida que são menos suscetíveis a falhas por fratura ou cárie. Neste estudo, amostras de 5Y-PSZ foram revestidas por vidros contendo prata (AgCoat) e boro (BCoat) como uma alternativa para aumentar o desempenho mecânico e fornecer capacidades antimicrobianas quando aplicado sob a superfície de 5Y-PSZ. A hipótese deste estudo é que AgCoat e BCoat aumentariam as propriedades mecânicas e a confiabilidade do 5Y-PSZ e diminuiriam a formação de biofilme sobre a superfície da cerâmica sem induzir toxicidade contra células humanas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Um dos maiores desafios dos materiais odontológicos hoje é equilibrar os requisitos primários de restaurações e reabilitações orais, como estética e resistência mecânica. Por esse motivo, o uso de materiais cerâmicos tem aumentado devido às suas características, como biocompatibilidade (Gautam et al., 2016), capacidade estética, estabilidade de cor, resistência ao desgaste e baixa condutividade térmica (Koenig et al., 2019). Dentre esses materiais, a zircônia se destaca por apresentar altos valores de tenacidade à fratura e resistência à flexão (Ban, 2023).

A zircônia é um material polimórfico que pode ser encontrado em três formas cristalográficas: monoclinica, desde a temperatura ambiente até 1170 °C; tetragonal, em temperaturas acima de 1170 °C; e cúbica, quando a temperatura sobe acima de 2370 °C (da Silva et al., 2022). Este material não pode ser utilizado em seu estado puro na odontologia, pois só atinge a estabilidade em temperatura ambiente após a adição de um óxido dopante (Zhang,Lawn, 2019).

Mesmo com a adição de estabilizadores, a microestrutura da zircônia não é completamente estável (Kolakarnprasert et al., 2019). Um estímulo mecânico, físico ou químico pode fornecer energia suficiente para transformar os cristais da fase tetragonal para a fase monoclinica (Ban, 2020). Esta dinâmica, também conhecida por transformação T-M, pode ser induzida por fatores termomecânicos, resultando em um aumento volumétrico de cerca de 3 a 4% no material (Wertz et al., 2021).

Isto pode resultar no desenvolvimento de campos locais de tensões compressivas que, quando localizados próximos a defeitos superficiais ou na ponta de uma eventual trinca, atuam como um mecanismo para impedir sua propagação, reduzindo a incidência de falhas mecânicas em zircônia (Zhang et al., 2019). Essa transformação ocorre em todas as zircônias, mas é mais amena na zircônia de 1ª geração, majoritariamente cúbica, por conta de sua composição com apenas 20% de grãos tetragonais. Portanto, a resistência mecânica da zircônia 5Y-PSZ, é menor do que a zircônia tradicional (Stawarczyk et al., 2017).

Como a estrutura e composição na zircônia de 1ª geração tornava a sua aparência opaca (Zhang,Lawn, 2018), este material foi inicialmente usado como um material de infraestrutura, sendo foi coberto por cerâmicas mais translúcidas

(Zhang, Ma, 2009), a fim de resultar em uma restauração estética. Embora suas propriedades mecânicas apresentassem melhores índices, a cerâmica de revestimento frequentemente lascava e falhava (Čokić et al., 2022). A zircônia de terceira geração (3 mol% policristal de zircônia tetragonal estabilizada com ítrio, 3Y-TZP) foi desenvolvida para resolver os problemas de baixa translucidez das primeira e segunda gerações (Zhang, Lawn, 2018). Proporções aumentadas de fase cúbica não birrefringente foram usadas para criar a zircônia parcialmente estabilizada com ítrio a 5% mol (5Y-PSZ), que aumentou significativamente a translucidez (Vila-Nova et al., 2020). Em comparação com as tetragonais, as formações cristalinas cúbicas são mais isotrópicas e têm um volume maior (de Araújo-Júnior et al., 2022).

Além disso, a luz incidente pode ser distribuída uniformemente em todas as direções devido a esta estrutura isotrópica (Reyes et al., 2019). O comportamento mecânico da zircônia 5Y-PSZ limita a sua aplicabilidade, apesar de sua maior translucidez. Quando comparado com a zircônia tetragonal, a resistência e tenacidade são menores porque não sofre transformação induzida por tensão (Lai et al., 2017).

Por isso, entre as zircônias de última geração, a translúcida 5Y-PSZ, estabilizada por óxido de ítrio, tem sido cada vez mais utilizada em tratamentos de reabilitação estética, como coroas anteriores (Čokić et al., 2022). Apesar da vantagem estética da zircônia translúcida (Pizzolatto, Borba, 2021), a degradação do material que ocorre na temperatura do meio bucal é classificado como de baixa degradação por temperatura (LTD), que além de resultar em uma zircônia com um aspecto mais rugoso em sua superfície (Han et al., 2021), deteriora também as propriedades mecânicas (Moreira Bastos Campos et al., 2021), diminuindo sua dureza, densidade e tenacidade à fratura (Lai et al., 2017). Além disso, a zircônia apresenta menor capacidade adesiva a outros materiais quando comparada com as vitrocerâmicas (Mao et al., 2018).

Materiais cerâmicos são altamente sensíveis à presença de defeitos devido à sua natureza frágil (Alves et al., 2022). Rotineiramente, o revestimento de vidro de silicato pode ser aplicado à superfície da cerâmica para selar defeitos superficiais e, conseqüentemente, melhorar as propriedades do material (Moreira Bastos Campos et al., 2021). Uma abordagem possível, em vista da melhoria das propriedades mecânicas da zircônia e da promoção de atividade antimicrobiana, é a adição de partículas de prata na composição do recobrimento vítreo (Nkou Bouala et al., 2018).

Apesar de indícios na literatura sobre o efeito de vidros com prata aumentarem a resistência flexural e confiabilidade do material, a sua aplicabilidade clínica deve ser investigada (Moreira Bastos Campos et al., 2021). O mecanismo biológico de ação do vidro de prata se dá através da liberação de íons. Quando o material entra em contato com a água, os íons liberados interagem com a superfície da membrana celular dos microrganismos (Bapat et al., 2018), alterando sua permeabilidade e induzindo dano celular (Liao et al., 2019). No entanto, materiais dopados com prata também podem afetar células humanas e induzir citotoxicidade (Chernousova, Eppler, 2013).

Por outro lado, na literatura há indícios de que a adição de boro aos vidros de silicato tende a melhorar a resistência diminuindo as falhas internas (Joo et al., 2011). O boro reduz o coeficiente de expansão térmica (CTE) de vidros de silicato (Xu et al., 2014), que, quando aplicado sobre um material com maior CTE (zircônia: $\sim 10,10^{-6} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$), induz tensões superficiais compressivas. Devido à aplicação de vidro ao substrato, sua resistência a fraturas superficiais e propagação de trincas é maior, através do aumento da resistência à compressão da superfície, caracterizando uma técnica amplamente conhecida (Al-Nidawi et al., 2023). Este mecanismo está relacionado com as porosidades superficiais do material, que se tornam mais densas enquanto seu coeficiente de expansão térmica é reduzido após o processo de sinterização e resfriamento (Kang et al., 2023).

Estudos anteriores demonstraram que a tensão de compressão gerada pelo revestimento pode produzir tensões residuais de tração no núcleo do material (Moreira Bastos Campos et al., 2021). A aplicação de um revestimento de vidro pode ser capaz de causar a transformação da fase tetragonal para monoclinica, o que aumentaria a resistência à flexão e a confiabilidade da 5Y-PSZ (Wertz et al., 2021). A chamada transformação de fase induzida por tensão, que é causada por uma carga externa e resulta em expansão e mudanças de forma dentro de partículas individuais, pode absorver energia de fratura e produzir alta tenacidade (Rosa et al., 2009). Assim, é possível que o vidro contendo boro fortaleça a zircônia não apenas preenchendo os poros e defeitos na superfície do material durante o processo de sinterização, tornando-o mais homogêneo (Gaafar et al., 2021), mas também aumentando sua densificação de reticulação, aumentando a estabilidade e rigidez da rede vítrea (Al-Nidawi et al., 2023).

Uma vez que eventos inerentes à zircônia, tais como LTD, favorecem o

aumento da rugosidade superficial (Schünemann et al., 2019), potencializando a crescimento do biofilme (Matsumoto-Nakano, 2018), buscam-se soluções que possam melhorar suas condições de superfície (Moreira Bastos Campos et al., 2021).

Outra condição relacionada às características de superfície dos materiais dentários, além de sua performance mecânica, é a dinâmica de adesão de biofilmes e a influência de sua topografia de superfície influencia na dinâmica de microrganismos (Ellepola et al., 2017). A colonização de superfícies cerâmicas por microrganismos é uma preocupação clínica, pois pode levar ao fracasso da restauração, não só afetando a união da cerâmica ao tecido dental (Ramaraj et al., 2020), mas também causando cáries secundárias, um dos principais motivos que levam à falha da restauração (Hao et al., 2018).

Portanto, a aplicação de um revestimento é um dos métodos mais eficazes para não só melhorar as propriedades mecânicas da zircônia (Schünemann et al., 2019), mas também promover a redução do biofilme em sua superfície (Jung et al., 2019).

Em estudos anteriores, os revestimentos vítreos demonstraram possíveis benefícios nas propriedades mecânicas e na capacidade antimicrobiana da zircônia (de Oliveira Pinto Ribeiro et al., 2022). Por outro lado, pouco se sabe sobre como esses materiais afetam o comportamento da 5Y-PSZ (Vila-Nova et al., 2020).

Dentre os diversos componentes que podem ser adicionados a vidros de revestimento para conferir propriedades específicas, o hidróxido de boro exibe ação bacteriostática in vitro contra uma variedade de cepas bacterianas (Sayin et al., 2016). Este efeito pode estar relacionado à capacidade de revestimentos vítreos contendo boro de promover a liberação íons hidroxila no meio (Kang et al., 2023), o que pode aumentar o pH do ambiente, levando à degradação do EPS e interrompendo a estrutura do biofilme (Al-Nidawi et al., 2023).

Essa dinâmica pode ser vantajosa clinicamente, pois a estrutura enfraquecida de biofilme pode ser menos virulenta e mais fácil de ser destruída através de forças mecânicas como às produzidas pela escovação (Shofri et al., 2020), traduzindo-se na possibilidade de apresentar um diminuído risco de desenvolvimento de cárie secundária nas margens das restaurações de cerâmica (Klein et al., 2015).

Uma das principais bactérias de um biofilme bucal é o *Streptococcus mutans*, que além de influenciar na adesão e no amadurecimento do biofilme (Joo et al., 2011), também secreta uma matriz polissacarídica extracelular (EPS) que impacta em sua

patogenicidade e virulência (Matsumoto-Nakano, 2018). Além disso, o EPS apresenta importante papel na coordenação do efeito quorum sensing (Temel et al., 2023), que modula as interações entre os microrganismos presentes no biofilme, afetando o seu desenvolvimento e maturação (Bassler, Losick, 2006). Outro microrganismo importante que compõe o biofilme bucal é a *Candida albicans*, que além de ser o agente causador da candidíase bucal (Young et al., 2021), também influencia no desenvolvimento, proliferação e retenção de biofilmes de *S. mutans*, impactando a progressão da cárie dentária e, portanto, influenciando no sucesso de reabilitações orais cerâmicas (Khoury et al., 2020).

Além disso, a citocompatibilidade é uma preocupação quando se trabalha com vidros experimentais, pois um material não pode ser usado clinicamente se existe a possibilidade de seus efeitos comprometerem a saúde dos tecidos (Bhasker et al., 2016).

Porém, ainda não há relatos na literatura sobre a influência da aplicação de revestimentos vítreos contendo boro ou prata sobre a zircônia translúcida, no que concerne aos seus efeitos quanto ao aperfeiçoamento das características mecânicas do material e a conferência de propriedades antimicrobianas sem induzir toxicidade contra células humanas.

3 PROPOSIÇÃO

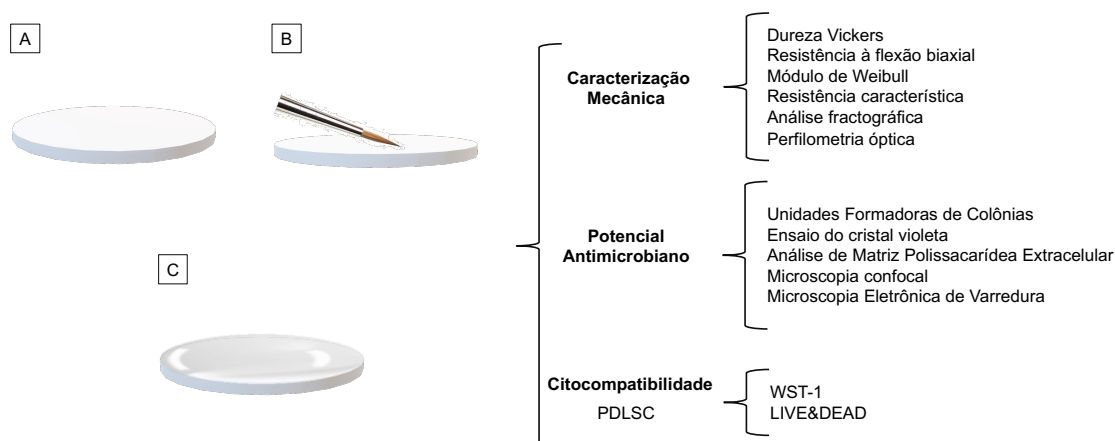
O objetivo geral deste estudo é avaliar as propriedades mecânicas, a atividade antimicrobiana e a citocompatibilidade da zircônia translúcida 5Y-PSZ revestida por diferentes revestimentos vítreos. A hipótese específica é que os grupos AgCoat e BCoat aumentariam as propriedades mecânicas e a confiabilidade do 5Y-PSZ e diminuiriam a formação de biofilme sobre a superfície da cerâmica sem induzir toxicidade contra células humanas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de zircônia translúcida (KATANA UTML™, Kuraray Noritake Dental Inc, Tóquio, Japão) foram divididas em quatro grupos que se diferem no tratamento de superfície: polido, sem nenhum revestimento (Controle), aplicação de glaze comercial (Glaze), vidro experimental contendo prata (AgCoat); e vidro experimental contendo boro (BCoat).

Os espécimes foram submetidos à análise mecânica com testes de dureza, flexão biaxial, fractografia e análise de rugosidade através de perfilometria óptica; ao estudo de propriedades antimicrobianas com biofilmes de *S. mutans* e *C. albicans* através dos ensaios de cristal violeta (CV), contagem de unidades formadoras de colônia (UFC), análise de matriz polissacarídica extracelular (EPS), biovolume, microscopia confocal de varredura a laser (CLSM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV); e testes de citocompatibilidade, com células tronco de ligamento periodontal (PDLSC) com os ensaios WST-1 e LIVE&DEAD, conforme a Figura 1.

Figura 1 – Fluxo do processo de preparo das amostras



Legenda: A) Disco sinterizado de 5Y-PSZ; B) Aplicação de revestimento de vidro para sinterização (Glaze - 900 °C, 4 min, 40 °C/min; AgCoat e BCoat - sinterização em duas etapas: 700 °C por 30 min, seguido de 1200 °C por 20 min em aquecimento de 12°C/min); C) Os grupos Controle, Glaze, AgCoat e BCoat foram caracterizados quanto às propriedades mecânicas, potencial antimicrobiano e citocompatibilidade.

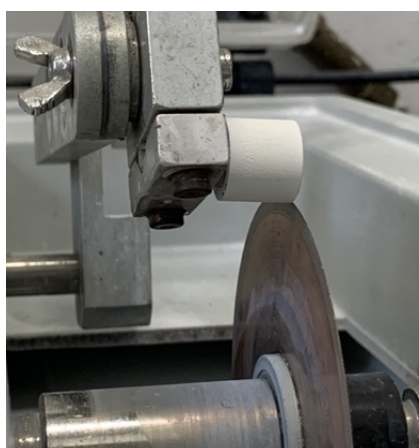
Fonte: Elaborada pela autora.

4.1 Preparação das amostras

4.1.1 Confecção dos espécimes

Os espécimes de zircônia foram obtidos a partir de um disco de 5Y-PSZ, zircônia parcialmente estabilizada por óxido de ítrio a 5% mol (KATANA UTML™, Kuraray Noritake Dental Inc, Tokyo, Japão), usinados em cilindros e cortados em discos com disco diamantado em máquina de corte (Isomet® 1000, Precision Sectioning Saw, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EUA) sob refrigeração constante (Figura 2).

Figura 2 – Espécimes sendo cortados em Isomet® 1000



Fonte: Elaborada pela autora.

Foram obtidos 200 espécimes, divididos em 4 grupos: polido, sem nenhum revestimento (Controle), aplicação de glaze comercial (Glaze) ou vidro experimental contendo prata ou boro (AgCoat ou BCoat, respectivamente).

Devido à contração de aproximadamente 18% da cerâmica 5Y-PSZ após a sinterização, as dimensões iniciais dos espécimes em forma de disco tinham espessura de 1,5 mm e diâmetro de 17 mm. Após a sinterização, os espécimes em bloco tinham as dimensões de 16 x 1,2 mm, como indicado pela norma ISO 6872. As amostras tiveram as superfícies polidas manualmente em politriz automática (EcoMet™/AutoMet™250, Buehler, Illinois, EUA) com lixas d'água de granulação

decrecente #600 até #1200 (30 s por lixa), sob refrigeração com água, sendo que a direção da peça foi alterada em 90° a cada etapa de lixamento, para evitar formação de sulcos preferenciais.

Após limpeza em banho ultrassônico com álcool isopropílico durante 5 min, os espécimes foram submetidos à sinterização em forno Sirona in Fire HTC (Sirona Dental System GmbH, Bensheim, Alemanha) de acordo com ciclo de sinterização recomendada pelo fabricante (Temperatura de queima – 1500 °C por 2 horas, taxa de elevação 10 °C/minuto).

Em seguida, as amostras do grupo Glaze receberam uma fina camada de glaze comercial (Cerabien ZR™, Kuraray Noritake Dental Inc, Tokyo, Japão) sobre a face de trabalho através de pincelamento e foram sinterizadas seguindo os protocolos do fabricante em forno Vita Zyrcomat (Vita Zahnfabrik, Bad, Säckingen, Alemanha).

Para os grupos AgCoat e BCoat, após a respectiva fabricação dos vidros, o pó resultante foi misturado com propilenoglicol e aplicado sobre os espécimes pré-sinterizados com pincel (Figura 3) e sinterizados em forno Vita Zyrcomat (VITA Zahnfabrik) seguindo o ciclo de sinterização em duas etapas: 700 °C por 30 min, seguido de 1200 °C por 20 min em aquecimento de 12°C/min).

Figura 3 – Aplicação de vidro experimental sobre superfície de 5Y-PSZ pré-sinterizada através da técnica de pincelamento



Fonte: Elaborada pela autora.

4.1.2 Fabricação dos vidros experimentais

A fabricação dos vidros experimentais se deu através do método sol-gel. O ácido silícico foi obtido pela passagem de metassilicato de sódio ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) em solução aquosa (10% m/m) através de uma resina de troca iônica (IR 120 – Rohm and Haas). Então, foram adicionados sais de alumínio (Al_2O_3 -11,7%), cálcio (CaO 3,0 %), sódio (Na_2O -7,3%) e potássio (K_2O -10,0 %).

Essa composição foi obtida através da mistura dos nitratos correspondentes aos cátions e a solução de ácido silícico correspondente à quantidade de sílica, sendo a base para ambos os vidros de prata e boro. Então, foram adicionados sais correspondentes a proporção em massa dos óxidos silício (SiO_2 65%) de alumínio (Al_2O_3 - 11,7%), cálcio (CaO 3,0 %), sódio (Na_2O -7,3%), e potássio (K_2O -10,0 %).

Para a formação do vidro de prata foram adicionados sais de prata (Ag -3%) e para o vidro de boro foi adicionado ácido bórico (H_3BO_3 – 3%). Os materiais foram colocados em uma estufa a 100 °C por 24 horas e calcinados a 600 °C por 5 horas. Após tal processo, o material foi moído e peneirado com peneira de 75 μm (200 mesh) (Figura 4).

Figura 4 – Fabricação dos vidros



Legenda: A) Obtenção do ácido silícico; B) Moagem do vidro.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.2 Caracterização mecânica

4.2.1 Teste de dureza

Para dureza Vickers, dez amostras de cada grupo foram testadas seguindo a norma ASTM C 1327-03. Três indentações (1 kg, 10 s) foram feitas em cada espécime usando o indentador de diamante Vickers (HMV-G21, Shimadzu, Japão). O número de dureza Vickers (VHN) foi calculado de acordo com a equação (1), onde P é a carga (em N), e d é a média dos comprimentos diagonais (em mm).

$$\text{VHN} = 1,854 \text{ P}/d^2 \quad (1)$$

4.2.2 Teste de flexão biaxial

Os testes de flexão biaxial foram realizados em 30 amostras de cada grupo, usando a configuração de pistão em três esferas (Figura 5), seguindo as diretrizes da ISO 6872:2015.

Figura 5 – Dispositivos em espécime para o teste de flexão biaxial



Fonte: Elaborada pela autora.

Os testes foram realizados em máquina de ensaios universal (Emic DL-1000, Emic, Brasil) com velocidade de 1 mm/min até a fratura (Figura. A resistência à flexão biaxial (σ , em MPa) dos discos foi obtida de acordo com a equação (2):

$$\sigma = \frac{-0.2387P(X-Y)}{d^2} \quad (2)$$

Onde σ é a tensão máxima de tração em Pascal, P é a carga total aplicada até a fratura, em Newton e d é a espessura do disco de cerâmica, em mm. X e Y foram determinados pelas equações (3) e (4):

$$X = (1 + \nu) \ln \left(\frac{A}{B} \right)^2 + \left[\frac{(1-\nu)/2}{\left(\frac{A}{B} \right)^2} \right] \quad (3)$$

$$Y = (1 + \nu) \left[1 + \ln \left(\frac{A}{B} \right)^2 \right] + (1 + \nu) \left(\frac{A}{B} \right)^2 \quad (4)$$

Onde ν é o coeficiente de Poisson ($\nu = 0,315$), A é o raio da área sob carga em mm e B é o raio da amostra, em mm.

4.2.3 Fractografia

Para determinar as origens da fratura e as características fractográficas, dez espécimes fraturados de cada grupo, derivados do teste de flexão biaxial, foram avaliados por microscopia óptica (30 ×, Mitutoyo Sul Americana, Brasil) e microscopia eletrônica de varredura (Inspect S50 – FEI Worldwide Corporate Headquarters, EUA).

4.2.4 Rugosidade

Para a análise de rugosidade foi realizada através de perfilometria óptica. Para isso, cinco espécimes de cada grupo foram utilizados. Foram realizadas três leituras por espécime para análise qualitativa da superfície bidimensional e tridimensional das cerâmicas em perfilômetro óptico (Wyko NT1100, Veeco, Tucson, EUA). A análise da

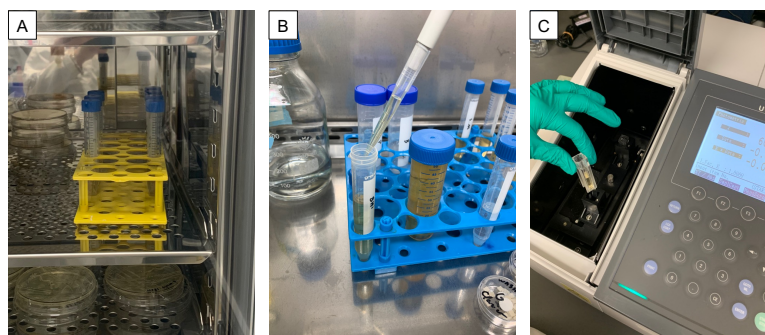
topografia superficial foi realizada utilizando o *software* Wyco Vision 32 (Veeco, Tucson, EUA) com aumento de 20x em uma área de 301,3 x 229,2 μm , seguindo a ISO 19606:2017.

4.3 Testes microbiológicos

4.3.1 Cultura microbiana

O potencial antimicrobiano foi avaliado usando cepas de *Streptococcus mutans* (UA159) e *Candida albicans* (ATCC 18804). Para uso rotineiro, *S. mutans* foi subcultivado em ágar infusão de cérebro e coração (BHI) (Sigma-Aldrich, EUA), inoculado em caldo BHI e incubado por 16 h a 37 °C em incubadora orbital a 80 rpm e *C. albicans* semeada em ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, EUA), sendo incubada em estufa a 37 °C. As culturas microbianas foram então centrifugadas a 5000 rpm por 5 min a 4 °C. Posteriormente, os pellets de células foram suspensos em 1 ml de meio fresco e a densidade óptica (OD) foi ajustada para 0,5 a 0,6 (aprox. 10^7 células/ml) em um comprimento de onda de 600 nm para *S. mutans* e 530 nm para *C. albicans*, usando um espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific, EUA), conforme Figura 6.

Figura 6 – Cultura de biofilme de *S. mutans*



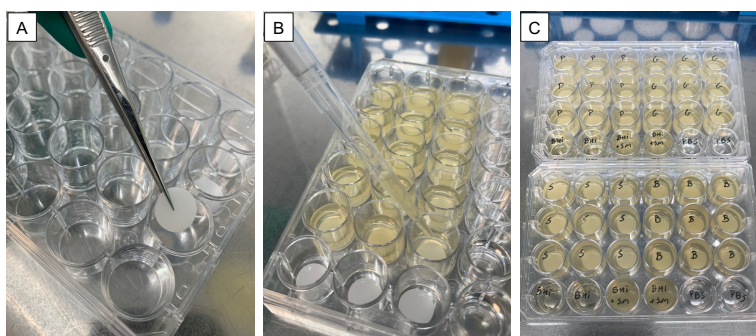
Legenda: A) Subcultura de *S. mutans*; B) Inoculação da bactéria de em novo meio de cultura; C) Ajuste de densidade óptica do biofilme em espectrofotômetro.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.2 Formação de biofilme *in vitro*

A formação do biofilme (Figura 7) foi realizada em placas de micro titulação de 24 poços, de poliestireno, pré-esterilizadas, de fundo plano (Greiner Bio-one, Cingapura). Para isso, os espécimes foram inseridos individualmente em cada poço, limpos com PBS e secos ao ar. Em seguida, as amostras foram submersas em 1 ml das soluções de células ajustadas para densidade óptica apropriada e todos os biofilmes usados nas caracterizações subsequentes foram deixados crescer por 48 h a 37 °C. O meio de cultura foi trocado após as primeiras 24 horas.

Figura 7 – Processo formação de biofilme sobre amostras

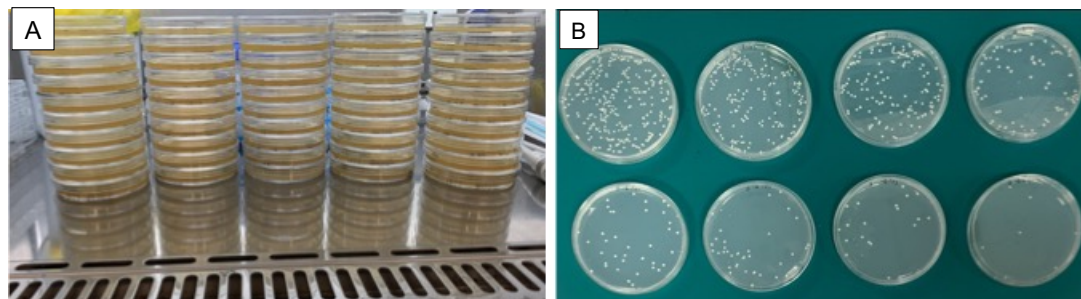


Legenda: A) Posicionamento de amostras em placa de 24 poços; B) Aplicação de meio de cultura com colônias de *S. mutans*; C) Display final do processo de formação de biofilme *in vitro*.
Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.3 Teste de Unidades Formadoras de Colônia (UFC)

A contagem de UFC foi realizada para avaliar o número de colônias viáveis de *S. mutans* e *C. albicans* na superfície dos espécimes. Para tanto, 9 amostras de cada grupo contendo biofilmes de espécie única cultivados por 48 h foram suavemente enxaguadas com PBS. Os discos foram então submersos em PBS e os biofilmes aderidos foram vigorosamente agitados por 3 minutos para dissociá-los. As suspensões celulares foram diluídas em PBS. Posteriormente, 100 µl da diluição foram semeados em BHI e deixados crescer por 48 h a 37 °C. Finalmente, o UFC foi quantificado (Figura 8).

Figura 8 – Processamento do teste de UFC



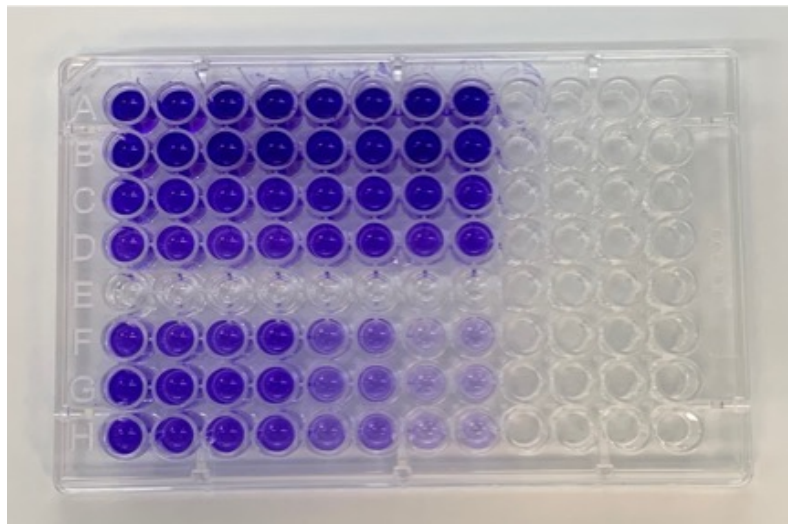
Legenda: A) Placas de ágar BHI após o processo de plaqueamento de *S. mutans*; B) Contagem de UFC.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.4 Teste de Cristal Violeta (CV)

A biomassa total do biofilme de *S. mutans* foi medida usando o método CV (Malhotra et al., 2022), conforme Figura 9. Os biofilmes crescidos sobre os espécimes, sendo utilizados 9 amostras de cada grupo para o teste, foram levemente enxaguados com PBS após 48 h. A seguir, os biofilmes foram fixados com formol a 2% por 15 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, os discos foram movidos para novos poços e embebidos em 1 ml de corante cristal violeta 1% (Sigma-Aldrich) por 5 minutos e lavados 3 vezes com PBS. A seguir, 500 μ l de etanol 95% foram adicionados ao poço e incubados por 15 min. Finalmente, 200 μ l de etanol foram transferidos para uma nova placa de 96 poços (Greiner bio-one, Cingapura) e a absorbância medida usando um espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific, EUA) a 570 nm.

Figura 9 – Disposição do teste de Cristal Violeta



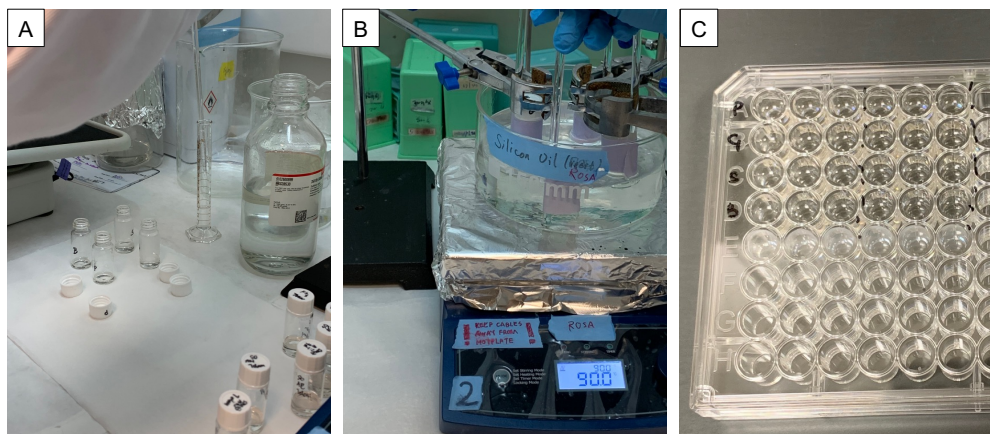
Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.5 Análise de Matriz Polissacarídica Extracelular (EPS)

A quantidade de matriz polissacarídica extracelular foi quantificada após o crescimento do biofilme de *S. mutans* sobre as amostras (9 espécimes por grupo) por 48 h. As células não aderentes foram removidas lavando suavemente com PBS. Em seguida, o biofilme foi agitado por 5 min em 1 ml de PBS e centrifugado a 4000 rpm.

Finalmente, 500 µl do sobrenadante foram misturados com 500 µl de 95% H₂SO₄ (Sigma Aldrich) em um agitador orbital por 20 min. Em seguida, 200 µl de formalina 2% foram adicionados às amostras e incubadas em banho de óleo de silicone a 100 °C por 20 min, seguido de banho-maria em temperatura ambiente por 20 min. Finalmente, a absorbância da solução foi medida usando espectrofotômetro (Multiskan GO) a 490 nm (Figura 10).

Figura 10 – O processo de ensaio EPS



Legenda: A) Adição de ácido sulfúrico ao sobrenadante; B) Amostras em banho de óleo de silicone; C) Amostras finais transferidas para uma placa de 96 poços para análise posterior.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.6 Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM)

Os biofilmes de *S. mutans* foram corados com SYTO-9 (excitação/emissão 485/498 nm) e iodeto de propídio (excitação/emissão 535/617 nm) de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, EUA). Os biofilmes corados foram visualizados usando CLSM (Fluoview FV1000 TIRF, Olympus, Japão). Cinco campos aleatórios foram analisados de 5 amostras selecionadas aleatoriamente de cada grupo e as seções Z foram reconstruídas a partir de três réplicas biológicas para a quantificação do biovolume (Imaris 9.1, Bitplane AG, Suíça).

4.3.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os biofilmes de *S. mutans* e *C. albicans* foram fixados com glutaraldeído a 2,5% (Sigma-Aldrich, EUA) a 4 °C durante a noite. 5 amostras de cada grupo foram então desidratadas em uma série graduada de etanol (25-100%) e um secador de ponto crítico (Leica EM CPD300, GmbH, Viena, Áustria) e observadas por MEV (Hitachi, Japão).

4.4 Citocompatibilidade

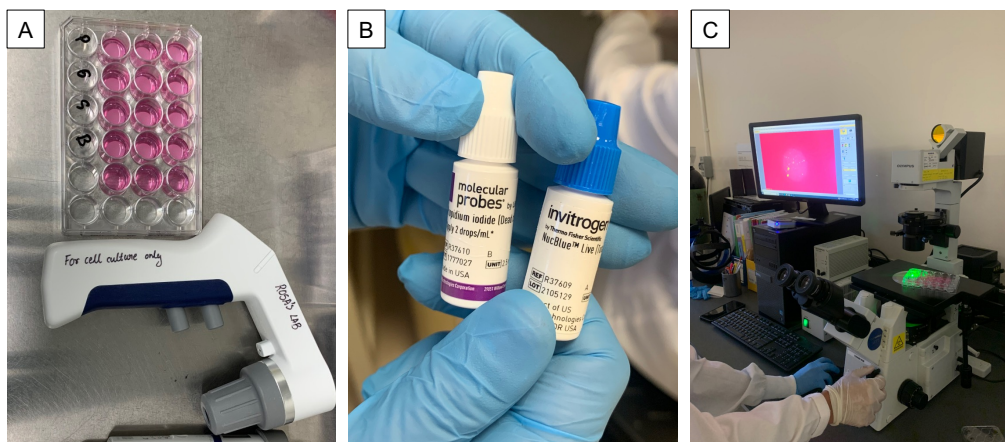
4.4.1 WST-1

Células-tronco do ligamento periodontal (PDLSC) foram cultivadas conforme descrito anteriormente (Xie et al., 2015). Para o ensaio WST-1, 10^3 PDLSC foram semeadas na superfície das amostras, sendo 9 espécimes por grupo, colocadas em placas de cultura de 24 poços e deixadas aderir e crescer por 24 h. A seguir, as células foram incubadas com 300 µl de reagente WST-1 (Sigma Aldrich) incubadas por 2 h a 37 °C com 5% de CO₂ e medida de absorbância a 450 nm. O espaço em branco eram discos sem células para controle.

4.4.2 Teste LIVE&DEAD

Para o ensaio LIVE&DEAD, 10^3 PDLSCs foram adicionados às amostras colocadas em uma placa de cultura de células de 24 poços e 500 µl de meio de crescimento feito de vermelho de fenol DMEM-F12 com 10% FBS (Gibco, Thermo Scientific) foi adicionado a cada bem. Em seguida, a mistura foi cultivada por 24 horas a 37 °C com 5% de CO₂. A seguir, 300 µl de reagentes LIVE&DEAD (Thermo Scientific) foram adicionados ao poço e incubados a 37 °C por 30 min. O kit de viabilidade/citotoxicidade vivo/morto da Thermo Fisher Scientific foi usado de acordo com as instruções do fabricante para realizar a coloração de células mortas vivas após 24 h. As amostras foram então examinadas sob um microscópio fluorescente (Olympus), conforme Figura 11.

Figura 11 – Preparação de testes de viabilidade celular



Legenda: A) PDLSC em meio de cultura distribuídas em uma placa de 24 poços para o teste; B) Corantes para o teste LIVE&DEAD; C) Análise em microscópio fluorescente.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.5 Análise estatística

Para todos os ensaios, três amostras biológicas foram utilizadas para cada grupo, e os experimentos foram realizados independentemente em triplicatas ($n=3$ e triplicatas). A análise estatística foi realizada com o software SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, EUA). Um nível de significância predeterminado de 5% foi considerado para todos os testes.

Os dados dos ensaios microbiológicos foram submetidos ao teste de Levene para homogeneidade, Shapiro-Wilk para normalidade, Durbin-Watson para autocorrelação e ANOVA one-way e teste de Tukey para comparação de grupos. Os dados de resistência à flexão foram submetidos à análise Weibull, cujo σ_0 se refere ao parâmetro de escala (ou posição) da distribuição e representa a resistência característica com uma probabilidade de falha (Pf) de 63,2%. O módulo de Weibull (m) é o parâmetro de forma de distribuição do modelo estatístico. Considerando o mesmo valor de σ_0 , um maior valor de m (maior inclinação da reta) representa uma menor dispersão dos dados amostrais.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização mecânica: dureza, resistência à flexão biaxial, fractografia e perfilometria óptica

A Tabela 1 mostra os resultados para resistência à flexão, tensão característica, módulo de Weibull e dureza. A dureza do BCoat foi semelhante ao AgCoat e Glaze (628, 598 e 599 VHN, respectivamente), que foram menores do que o Controle (1468 VHN).

Tabela 1 – Caracterização mecânica dos grupos testados com os valores de Resistência Flexural Média, Resistência Característica, Módulos de Weibull e Dureza Vickers

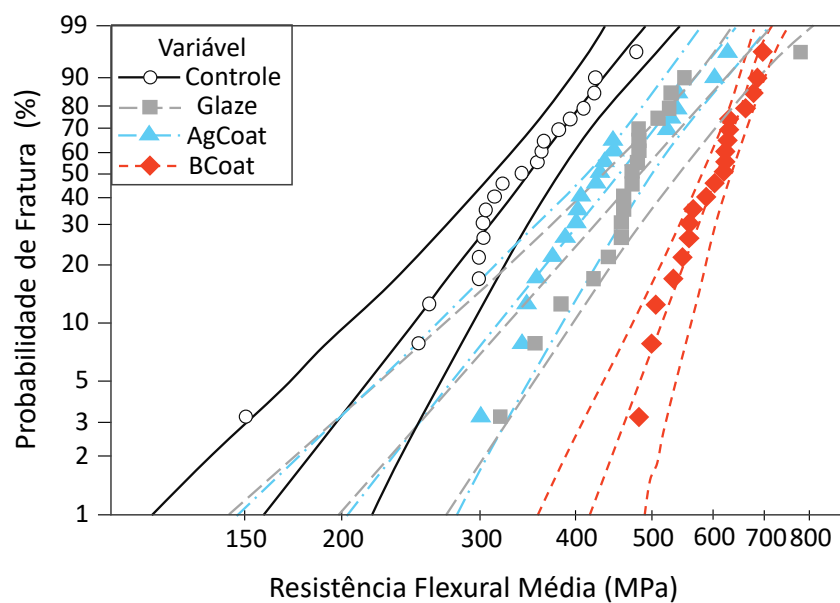
Grupos	Resistência Flexural Média (MPa)	Resistência Característica (MPa)	Módulo de Weibull (m)	Dureza Vickers (HV)
Controle	330,4±54,7 ^C	363,5 (334,2 – 395,1) ^C	5,6 (3,9 – 7,6) ^B	1468,5±87,2 ^A
Glaze	435,8±75,1 ^B	512,7 (464,3 – 564,6) ^B	4,8 (3,6 – 6,4) ^B	599,7±74,2 ^B
AgCoat	464,6±67,4 ^B	478,4 (438,6 – 522,1) ^B	5,3 (3,8 – 7,4) ^B	598,6±19,1 ^B
BCoat	625,3±53,2 ^A	620,8 (595,9 – 645,4) ^A	11,5 (8,1 – 16,1) ^A	628,3±15,4 ^B

Legenda: Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

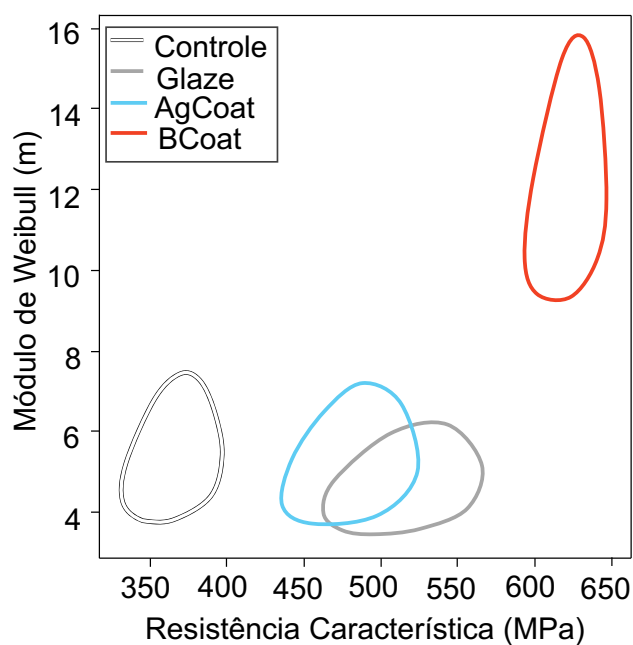
Com relação à resistência à flexão média, resistência característica e módulo de Weibull (Figuras 12, 13 e 14) os maiores valores foram os do grupo BCoat ($\sigma_F = 625$ MPa, $\sigma_0 = 620$ MPa, $m = 11,5$). Em relação à resistência característica, AgCoat apresentou valores superiores ao Controle. Além disso, a resistência característica do Glaze e do Controle foram estatisticamente semelhantes.

Figura 12 – Gráfico de Weibull dos grupos testados



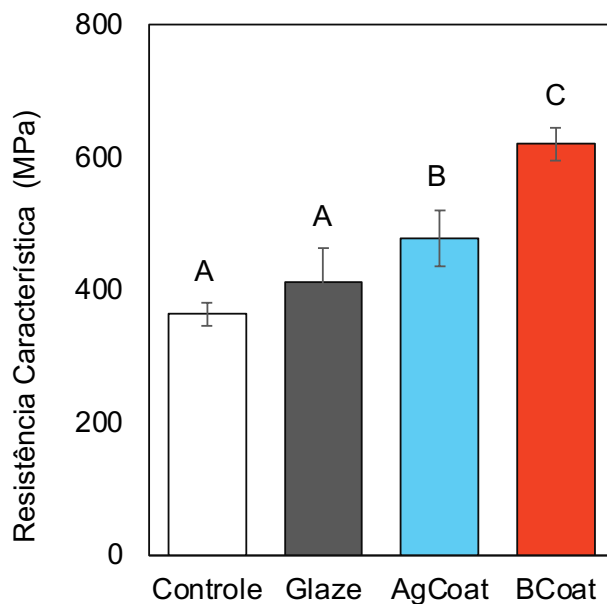
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 13 – Gráfico de controle em intervalos de confiança de 95% para os resultados dos testes de resistência à flexão biaxial



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 14 – Gráfico de Resistência Característica dos grupos testados

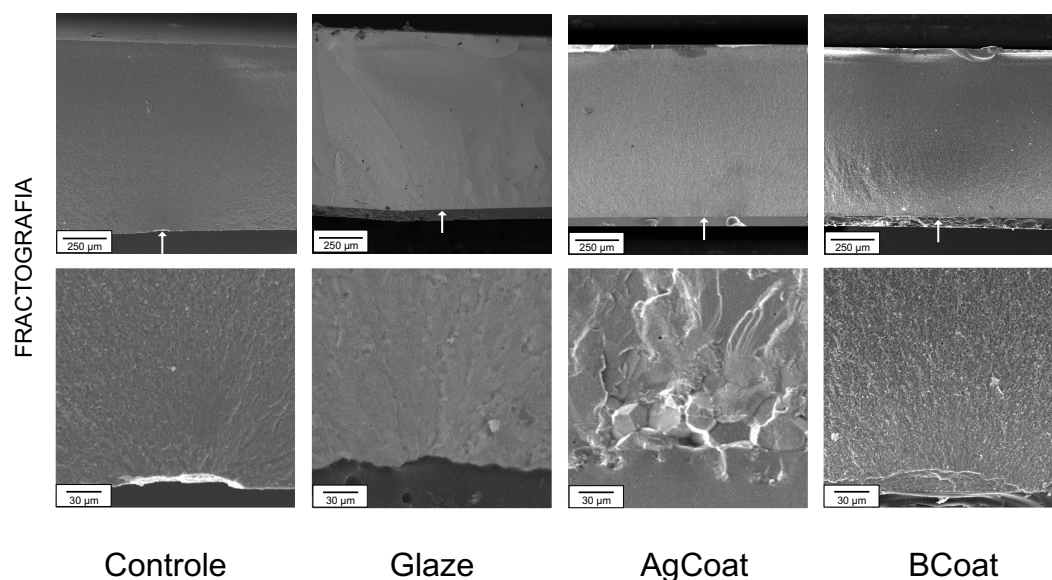


Legenda: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

A análise fractográfica (Figura 15) revelou que as falhas em todos os grupos são causadas por falhas superficiais no lado de tração do corpo de prova. No entanto, para BCoat, AgCoat e Glaze, as origens foram defeitos arredondados localizados na zircônia e não das camadas de vidro ou glaze.

Figura 15 – Análise fractográfica dos grupos testados



Legenda: As setas brancas indicam a área de origem da fratura. O controle apresenta uma falha na superfície que causou a propagação de trincas no corpo de prova, enquanto Glaze, AgCoat e BCoat também apresentam um defeito no lado de tração da zircônia, que originou a fratura.
Fonte: Elaborada pela autora.

Os dados obtidos no ensaio de Perfilometria Óptica foram submetidos à análise estatística, na qual foram realizados testes de normalidade, que constataram diferenças nas variâncias entre os grupos, sendo então realizado o teste Kruskal-Wallis (não paramétrico). Este teste constatou que os grupos de AgCoat e BCoat são mais lisos (e estatisticamente semelhantes entre si) em relação aos grupos Controle e Glaze (também estatisticamente semelhantes entre si), que apresentaram maiores valores médios de Ra (Tabela 2), além de ranhuras e poros em sua superfície, observados através da perfilometria (Figura 16).

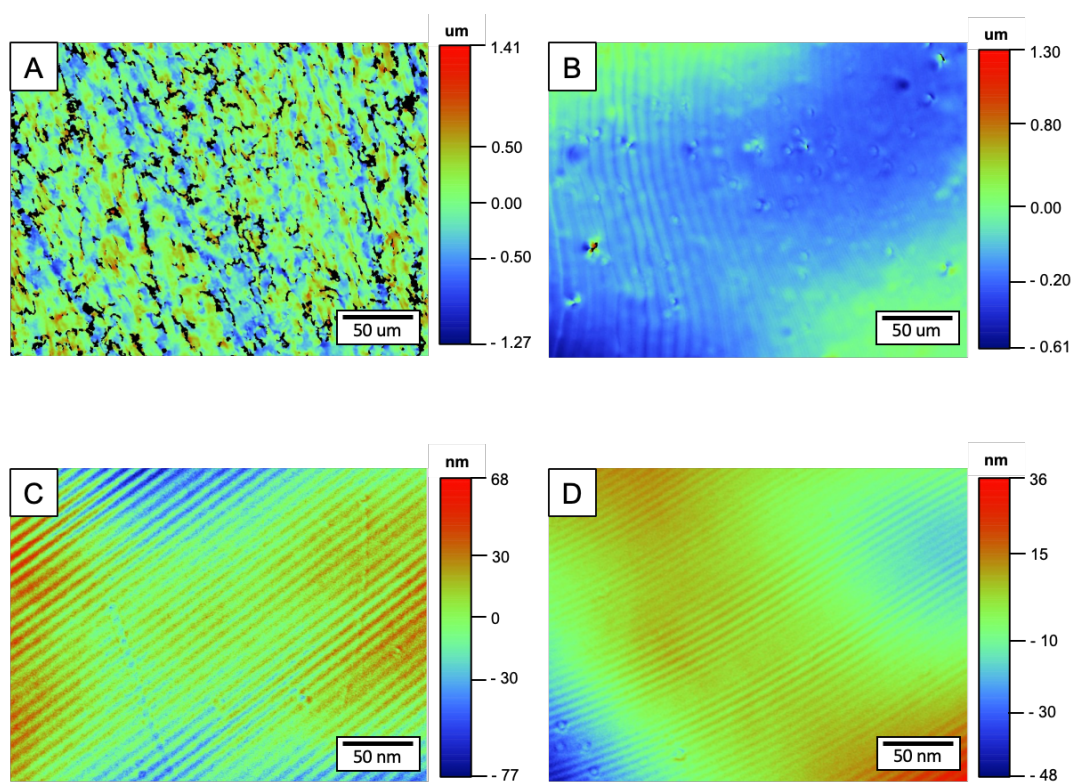
Tabela 2 – Parâmetro de rugosidade média (Ra) dos grupos testados

Grupos	Ra (μm)
Controle	293,2 $\pm$ 50,2 ^A
Glaze	233,1 $\pm$ 80,7 ^A
AgCoat	43,2 $\pm$ 22,8 ^B
BCoat	19,9 $\pm$ 4,9 ^B

Legenda: Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (teste Kruskal-Wallis).

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 16 – Análise de rugosidade dos grupos testados



Legenda: A) Controle; B) Glaze; C) AgCoat; D) BCoat.

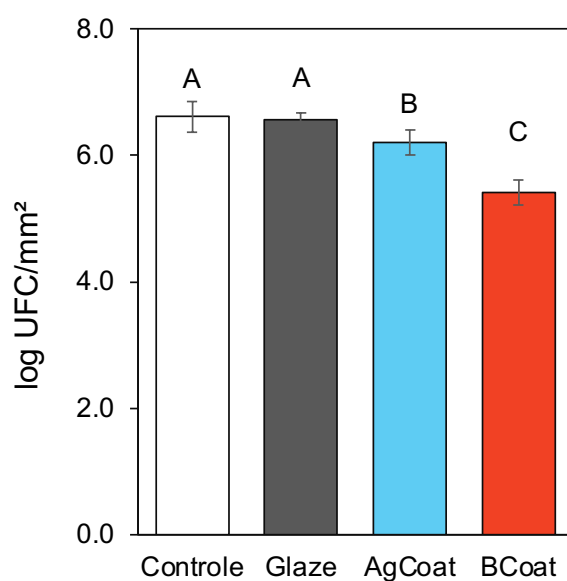
Fonte: Elaborada pela autora.

5.2 Propriedades antimicrobianas

5.2.1 Testes com *S. mutans*

O grupo BCoat diminuiu significativamente a formação de biofilmes de *S. mutans*, conforme mostrado pela menor UFC (5,94 log UFC/mm²) e atividade metabólica (0,17 a.u.) em comparação com os outros grupos (AgCoat: 6,44 log UFC/mm², 0,89 a.u.; Glaze: 6,81 log UFC/mm², 1,21 a.u.; Controle: 6,82 log UFC/mm², 1,25 a.u.), conforme figuras 17 e 18, respectivamente.

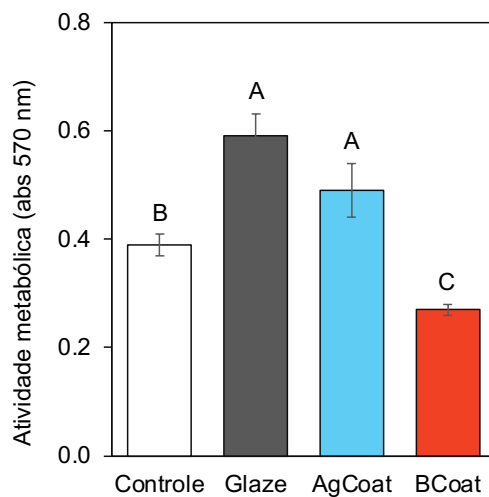
Figura 17 – Valores dos testes de UFC de *S. mutans* para os grupos testados



Legenda: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

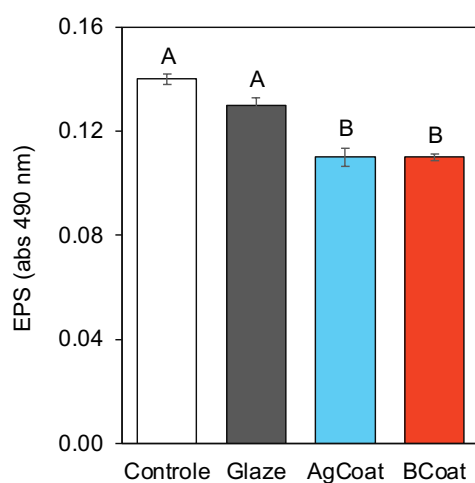
Figura 18 – Valores dos testes de Cristal Violeta de *S. mutans* para os grupos testados



Legenda: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).
 Fonte: Elaborada pela autora.

Além disso, BCoat e AgCoat apresentaram os menores valores de EPS (0,11 a.u.), seguidos por Glaze e Controle (0,13 a.u.; 0,14 a.u., respectivamente), conforme Figura 19.

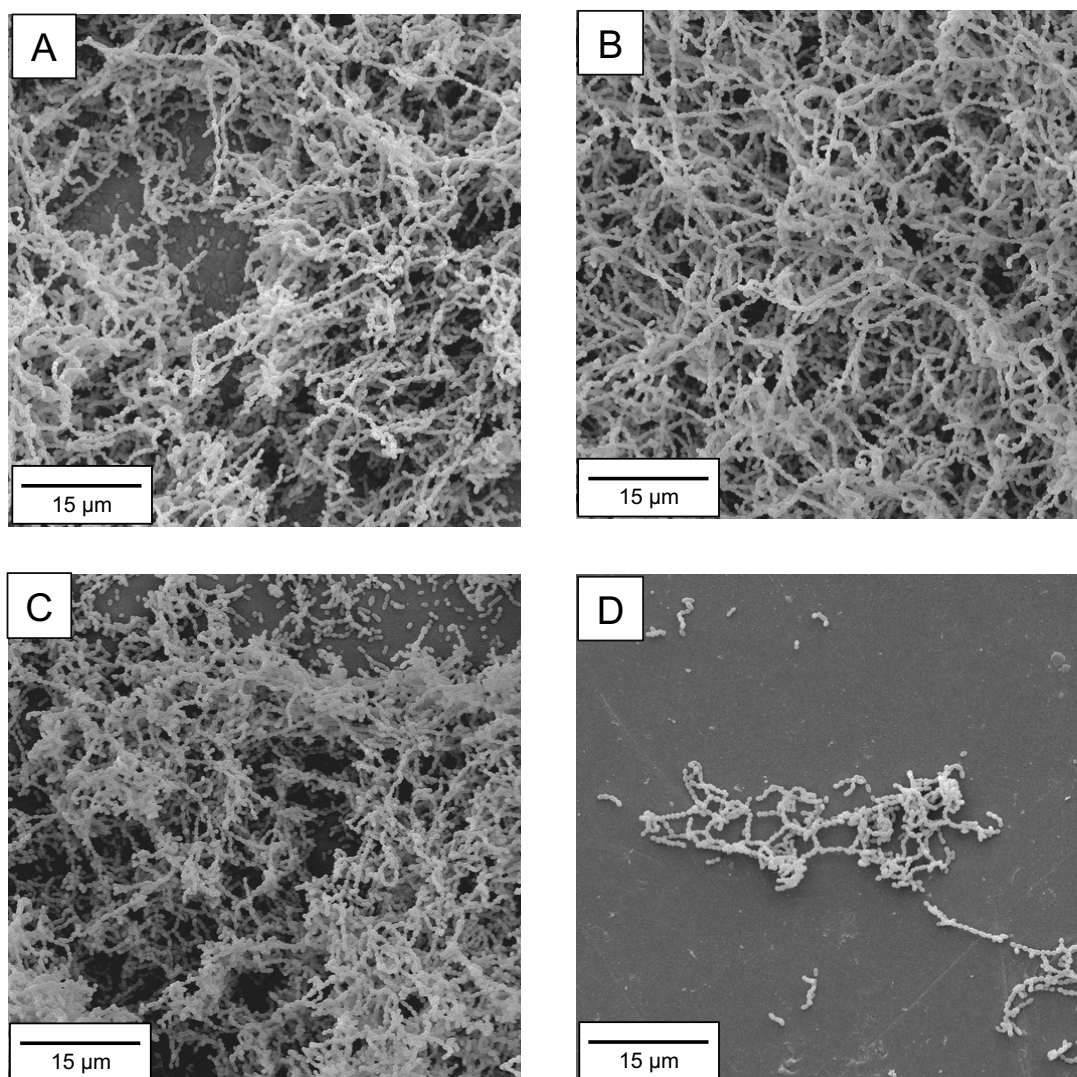
Figura 19 – Valores da Análise de Matriz Polissacarídica Extracelular de *S. mutans*



Legenda: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).
 Fonte: Elaborada pela autora.

O MEV e a análise através do CLSM revelaram que os biofilmes de *S. mutans* (Figuras 20 e 21, respectivamente) formados na superfície do grupo BCoat eram esparsos e fragmentados, enquanto os outros grupos produziram a formação de biofilmes robustos.

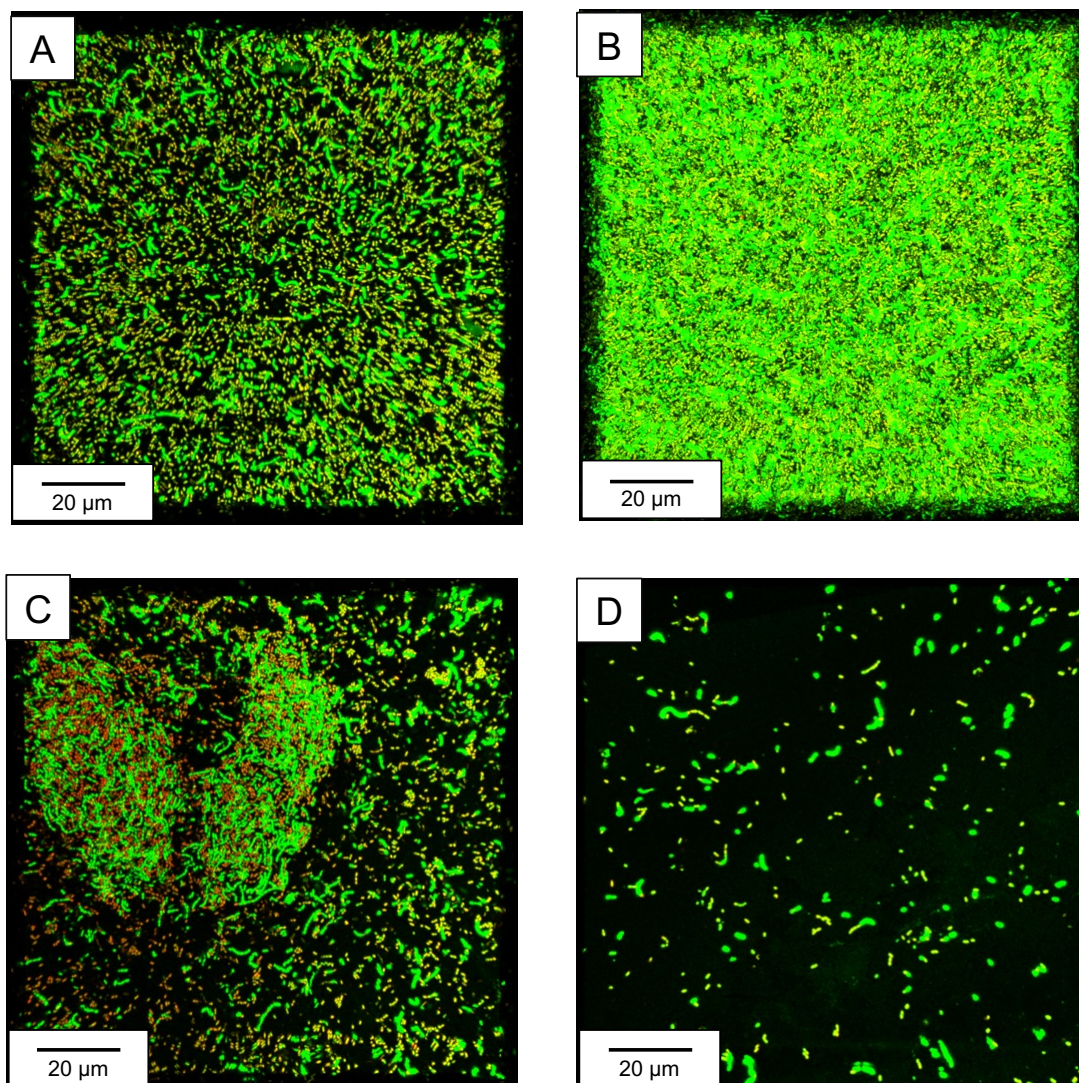
Figura 20 – Imagens obtidas através do MEV dos biofilmes de *S. mutans*



Legenda: A) Controle; B) Glaze; C) AgCoat; D) BCoat.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 21 – Imagens obtidas através do CLSM dos biofilmes de *S. mutans*

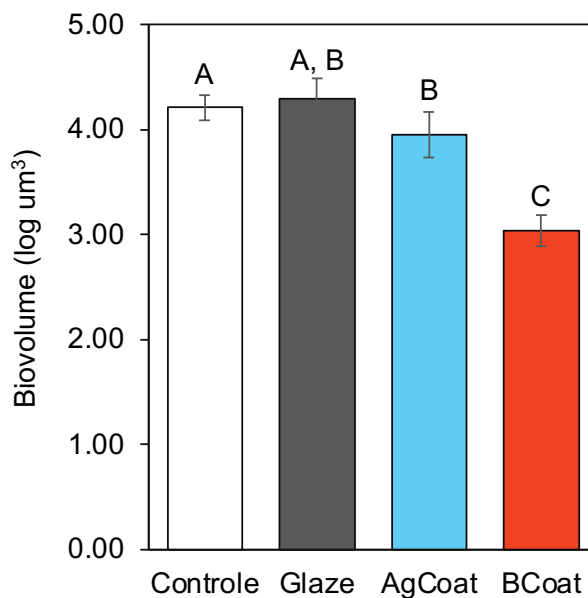


Legenda: A) Controle; B) Glaze; C) AgCoat; D) BCoat.

Fonte: Elaborada pela autora.

O log do biovolume do biofilme de *S. mutans* quantificado a partir do CLSM z-stack foi significativamente menor para o BCoat ($3.04 \log \mu\text{m}^3$) do que para todos os grupos (AgCoat: $3.96 \log \mu\text{m}^3$; Controle: $4.21 \log \mu\text{m}^3$; Glaze: $4.29 \log \mu\text{m}^3$), conforme visto na Figura 22.

Figura 22 – Valores do biovolume de *S. mutans*



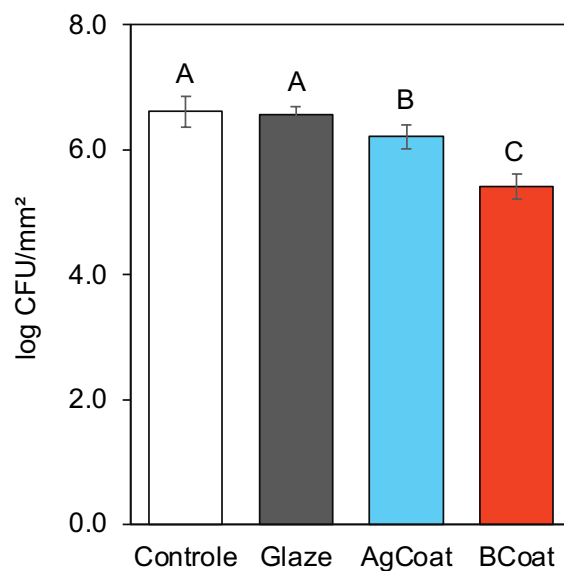
Legenda: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

5.2.1 Testes com *C. albicans*

Nos testes de UFC para *C. albicans*, o grupo BCoat diminuiu significativamente a formação do biofilme, conforme mostrado pelo menor UFC (5,41 log UFC/mm²) em comparação com os outros grupos (AgCoat: 6,21 log UFC/mm²; Glaze: 6,56 log UFC/mm²; Controle: 6,62 log UFC/mm²), conforme figura 23.

Figura 23 – Valores dos testes de UFC de *C. albicans* para os grupos testados

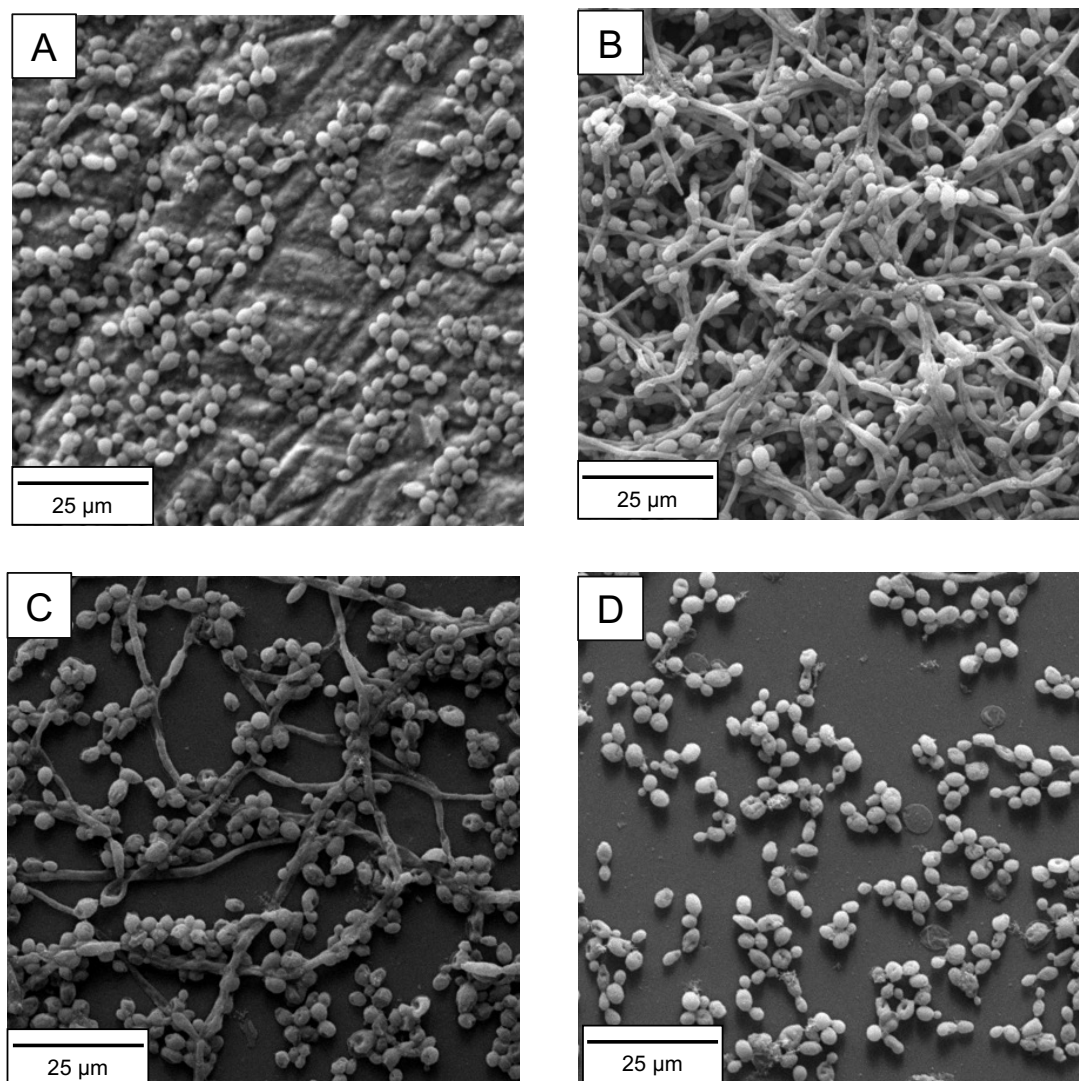


Legenda: Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora.

Já para o MEV de *C. albicans* (Figura 24), o padrão da arquitetura do biofilme foi observado. Nos grupos Controle, Glaze e AgCoat, é possível observar a formação de um biofilme robusto, com a presença de hifas, fator indicativo de um biofilme mais virulento (Young et al., 2021), enquanto em BCoat o biofilme formado é escasso e apresenta células apenas sob forma de levedura.

Figura 24 – Imagens obtidas através do MEV dos biofilmes de *C. albicans*



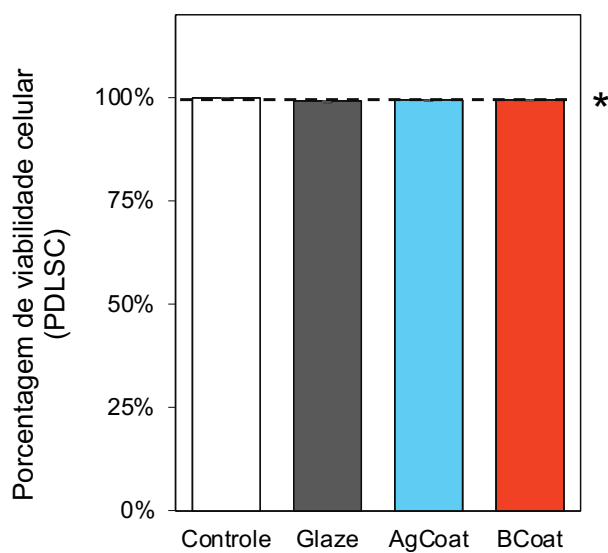
Legenda: A) Controle; B) Glaze; C) AgCoat; D) BCoat.

Fonte: Elaborada pela autora.

5.3 Citocompatibilidade

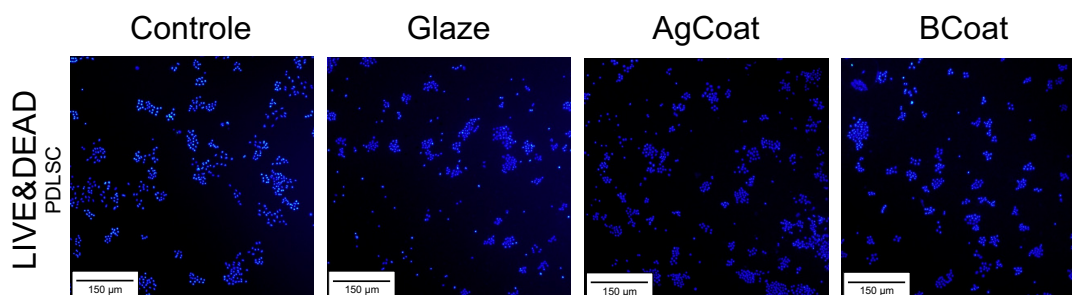
Os testes WST-1 e LIVE&DEAD mostraram resultados semelhantes para todos os grupos testados, sugerindo que nenhum efeito citotóxico foi induzido (Figuras 25 e 26).

Figura 25 – Resultado do teste WST-1 para os grupos testados



Legenda: O asterisco (*) indica o controle positivo (somente células vivas, poço vazio).
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 26 – Imagens do teste LIVE&DEAD dos grupos testados



Legenda: O teste de citocompatibilidade LIVE&DEAD com PDLSC cultivadas por 24 h nas superfícies dos grupos mostrou apenas células vivas em todos os grupos.
Fonte: Elaborada pela autora.

6 DISCUSSÃO

Tratamentos de superfície, como o glazeamento ou a aplicação de revestimentos, são meios promissores de aumentar as propriedades mecânicas da zircônia, promovendo a redução do biofilme em sua superfície (Moreira Bastos Campos et al., 2021; Schünemann et al., 2019). Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano e o comportamento mecânico de revestimentos experimentais em zircônia translúcida. A hipótese deste estudo foi parcialmente aceita, visto que AgCoat apresentou resultados relativamente semelhantes aos grupos Controle e Glaze, enquanto BCoat melhorou com sucesso a resistência à flexão do espécime enquanto impedia o crescimento bacteriano sem induzir citotoxicidade.

Em relação ao comportamento mecânico dos materiais cerâmicos, uma preocupação primordial é sua sensibilidade a defeitos devido à fragilidade inerente do material (Zhang, Lawn, 2019). Rotineiramente, o revestimento de vidro de silicato pode ser aplicado à superfície da cerâmica para selar defeitos superficiais e melhorar suas propriedades mecânicas (Campos et al., 2016; Zhang, Ma, 2009). Neste estudo, o glaze comercial não rendeu um aumento significativo na resistência à fratura da zircônia translúcida 5Y-PSZ. No entanto, o grupo BCoat produziu a melhora mais significativa na resistência à flexão característica e média em comparação com os outros grupos.

A adição de boro aos vidros de silicato melhora a resistência à fratura, diminuindo a porosidade da matriz vítrea (Zhu et al., 2009). Além disso, o boro reduz o coeficiente de expansão térmica (CTE) de vidros de silicato (Shofri et al., 2020), que, quando aplicado sobre um material com maior CTE (zircônia: $\sim 10,10^{-6}^{\circ}\text{C}^{-1}$), pode induzir tensões residuais de tração no núcleo de as tensões compressivas do material ou da superfície que impedem ou retardam a propagação da trinca (Rosa et al., 2009).

Notavelmente, BCoat também apresentou o maior módulo de Weibull, indicando maior confiabilidade. A interação entre a 5Y-PSZ e os vidros de silicato contendo boro ainda não foi completamente esclarecida na literatura (Joo et al., 2011). A aplicação de um revestimento vítreo pode causar uma transição da fase tetragonal para a fase monoclinica (Wertz et al., 2021), pela expansão e mudança de forma

dentro das partículas individuais (Ban, 2020; Han et al., 2021). Portanto, o BCoat pode fortalecer a zircônia preenchendo os poros e vazios na superfície do material durante o processo de sinterização (Alves et al., 2022) e aumentando sua densificação de ligações cruzadas, aumentando assim a estabilidade e rigidez da rede de vidro (Al-Nidawi et al., 2023).

Os espécimes revestidos com os vidros experimentais apresentaram resultados semelhantes e inferiores ao Controle, com relação à dureza do material, o que pode ser uma desvantagem no desgaste da superfície antagonista. Já os valores de rugosidade média foram significativamente menores para os grupos AgCoat e BCoat, o que pode representar uma vantagem clínica com relação à lisura superficial, impactando também na aderência antimicrobiana. No entanto, mais pesquisas são necessárias para confirmar se estes fatos podem se traduzir como tal.

A colonização de superfícies cerâmicas por *S. mutans* e *C. albicans* é uma preocupação clínica porque pode afetar a integridade marginal da restauração, levando ao descolamento ou cárie secundária (Ellepola et al., 2017; Klein et al., 2015). Neste estudo, BCoat conferiu forte potencial antibiofilme à cerâmica, conforme demonstrado pela redução da contagem total de UFC dos biofilmes de espécie única de *S. mutans* e de *C. albicans*, além da redução da atividade metabólica bacteriana e do biovolume do biofilme de *S. mutans*. Notavelmente, os biofilmes em BCoat apresentaram um EPS significativamente menor do que outros grupos. Isso é importante, pois o EPS do *Streptococcus mutans* desempenha um papel crítico na integridade física e na estabilidade do biofilme (Koo et al., 2010), regulando a formação inicial, aderência e organização estrutural das microcolônias (Hao et al., 2018) e modulando a virulência do biofilme (Matsumoto-Nakano, 2018).

A menor formação de biofilme e produção de EPS podem contribuir para o desenvolvimento de biofilmes fragmentados, com biovolume reduzido observado no BCoat. As origens desse potencial antibiofilme podem estar relacionadas ao potencial bacteriostático que o hidróxido de boro exibe contra várias cepas bacterianas (Jung et al., 2019). Também pode estar relacionado à liberação de íons hidroxila no meio (Kang et al., 2023), o que pode aumentar o pH do ambiente e levar à degradação do EPS e à ruptura da estrutura do biofilme (Khoury et al., 2020). Isso pode ser vantajoso, pois a estrutura de biofilme enfraquecida no BCoat pode ser menos virulenta e mais fácil de remover, traduzindo-se em um menor risco de desenvolver cárie secundária

nas margens da restauração de cerâmica (Cannillo et al., 2022), embora isso exija confirmação experimental. Finalmente, este estudo indicou que o BCoat é tão citocompatível quanto todos os outros grupos testados e não promove a proliferação ou morte de células tronco do ligamento periodontal.

Apesar dos resultados encorajadores, este trabalho tem algumas limitações. Os dados sugerem um potencial antibiofilme robusto do BCoat contra biofilmes de espécie única. Portanto, mais testes são necessários para determinar os efeitos do BCoat nas comunidades polimicrobianas ou de biofilmes mistos. Além disso, as propriedades mecânicas foram avaliadas em condições estáticas. Avaliações posteriores devem estudar o desempenho mecânico da zircônia translúcida revestida com BCoat sob fadiga dinâmica e cíclica. No entanto, considerando que as restaurações de zircônia rotineiramente recebem uma aplicação vítrea, a possibilidade de usar um material estético e biocompatível que proporcione fortalecimento e efeitos antimicrobianos é uma vantagem notável. Portanto, o BCoat surge como uma alternativa promissora para o revestimento de restaurações de 5Y-PSZ, e estudos futuros sobre essa propriedade com configurações mais complexas se fazem necessários.

7 CONCLUSÃO

A zircônia translúcida recoberta pelo vidro experimental contendo boro apresenta maior resistência e confiabilidade. Além disso, é citocompatível e fornece um potencial antibiofilme promissor, prevenindo a formação de biofilmes robustos em sua superfície. Portanto, 5Y-PSZ revestida por vidro experimental contendo boro surge como uma estratégia potencial para melhorar as propriedades mecânicas e antimicrobianas do material.

REFERÊNCIAS

- Al-Nidawi AJA, Matori KA, Zaid MHM, Liew JYC, Khushaini MAA, Zain ARM, et al. Enhancement of elastic properties and surface plasmon resonance with the addition of boron oxide to the ZnO–SiO₂ glass system. *J Non Cryst Solids*. 2023;605. doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2023.122175.
- Alves LMM, Rodrigues CS, Vardhaman S, Saunders C, Schneider JM, Lawn BR, et al. Exploring Ductility in Dental Ceramics. *J Dent Res*. 2022;101(12):1467–73. doi: 10.1177/00220345221100409.
- de Araújo-Júnior ENS, Bergamo ETP, Bastos TMC, Benalcázar Jalkh EB, Lopes ACO, Monteiro KN, et al. Ultra-translucent zirconia processing and aging effect on microstructural, optical, and mechanical properties. *Dent Mater*. 2022;38(4):587–600. doi: 10.1016/j.dental.2022.02.016.
- Arcila LVC, de Carvalho Ramos N, Campos TMB, Dapieve KS, Valandro LF, de Melo RM, et al. Mechanical behavior and microstructural characterization of different zirconia polycrystals in different thicknesses. *J Adv Prosthodont*. 2021;13(6):385–95. doi: 10.4047/jap.2021.13.6.385.
- Ban S. Development and characterization of ultra-high translucent zirconia using new manufacturing technology. *Dent Mater J*. 2023;42(1):1–10. doi: 10.4012/dmj.2022-243.
- Ban S. Chemical durability of high translucent dental zirconia. *Dent Mater J*. 2020;39(1):12–23. doi: 10.4012/dmj.2019-109.
- Bapat RA, Chaubal T V., Joshi CP, Bapat PR, Choudhury H, Pandey M, et al. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Mater Sci Eng C*. 2018;91:881–98. doi: 10.1016/j.msec.2018.05.069.
- Bassler BL, Losick R. Bacterially Speaking. *Cell*. 2006;125(2):237–46. doi: 10.1016/j.cell.2006.04.001.
- Bhasker TV, Gowda NKS, Mondal S, Krishnamoorthy P, Pal DT, Mor A, et al. Boron influences immune and antioxidant responses by modulating hepatic superoxide dismutase activity under calcium deficit abiotic stress in Wistar rats. *J Trace Element Med Biol*. 2016;36:73–9. doi: 10.1016/j.jtemb.2016.04.007.
- Campos TMB, Ramos NC, MacHado JPB, Bottino MA, Souza ROA, Melo RM. A new silica-infiltrated Y-TZP obtained by the sol-gel method. *J Dent*. 2016;48:55–61. doi: 10.1016/j.jdent.2016.03.004.

Cannillo V, Salvatori R, Bergamini S, Bellucci D, Bertoldi C. Bioactive Glasses in Periodontal Regeneration: Existing Strategies and Future Prospects—A Literature Review. *Materials*. 2022;15(6). doi: 10.3390/ma15062194.

Chernousova S, Eppe M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angewandte Chemie - International Edition*. 2013;52(6):1636–53. doi: 10.1002/anie.201205923.

Čokić SM, Córdor M, Vleugels J, Meerbeek B Van, Oosterwyck H Van, Inokoshi M, et al. Mechanical properties–translucency–microstructure relationships in commercial monolayer and multilayer monolithic zirconia ceramics. *Dent Mater*. 2022;38(5):797–810. doi: 10.1016/j.dental.2022.04.011.

Ellepola K, Liu Y, Cao T, Koo H, Seneviratne CJ. Bacterial GtfB Augments *Candida albicans* Accumulation in Cross-Kingdom Biofilms. *J Dent Res*. 2017;96(10):1129–35. doi: 10.1177/0022034517714414.

Gaafar MS, Marzouk SY, Mahmoud IS. Role of dysprosium on some acoustic and physical properties of PbO-B₂O₃-SiO₂ glasses. *Results Phys*. 2021;22. doi: 10.1016/j.rinp.2021.103944.

Gautam C, Joyner J, Gautam A, Rao J, Vajtai R. Zirconia based dental ceramics: structure, mechanical properties, biocompatibility and applications. *Dalton Transactions*. 2016;45(48):19194–215. doi: 10.1039/c6dt03484e.

Han J, Zhang F, Van Meerbeek B, Vleugels J, Braem A, Castagne S. Laser surface texturing of zirconia-based ceramics for dental applications: A review. *Mater Sci Eng C*. 2021;123. doi: 10.1016/j.msec.2021.112034.

Hao Y, Huang X, Zhou X, Li M, Ren B, Peng X, et al. Influence of dental prosthesis and restorative materials interface on oral biofilms. *Int J Mol Sci*. 2018;19(10). doi: 10.3390/ijms19103157.

Jakubovics NS, Goodman SD, Mashburn-Warren L, Stafford GP, Cieplik F. The dental plaque biofilm matrix. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):32–56. doi: 10.1111/prd.12361.

Joo KJ, Song KW, Jung JH, Ahn HJ, Park IS, Lee MH, et al. The effect of melt infiltration of borosilicate glass on biaxial flexural strength of porcelain-veneered zirconia. *Metals Mater Inter*. 2011;17(4):557–62. doi: 10.1007/s12540-011-0805-9.

Jung S, Day T, Boone T, Buziak B, Omar A. Anti-biofilm activity of two novel, borate based, bioactive glass wound dressings. *Biomed Glass*. 2019;5(1):67–75. doi: 10.1515/bglass-2019-0006.

Kang J, Guo X, Gu R, Tang Y, Hao H, Lan Y, et al. Effect of boron-based glass additives on the ionic conductivity of $\text{Li}_{1.3}\text{Al}_{0.3}\text{Ti}_{1.7}(\text{PO}_4)_3$ solid electrolyte. *J Alloys Compd.* 2023;941. doi: 10.1016/j.jallcom.2023.168857.

Khoury ZH, Vila T, Puthran TR, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Melo MAS, et al. The Role of *Candida albicans* Secreted Polysaccharides in Augmenting *Streptococcus mutans* Adherence and Mixed Biofilm Formation: In vitro and in vivo Studies. *Front Microbiol.* 2020;11. doi: 10.3389/fmicb.2020.00307.

Klein MI, Hwang G, Santos PHS, Campanella OH, Koo H. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015;5(FEB). doi: 10.3389/fcimb.2015.00010.

Koenig V, Wulfman C, Bekaert S, Dupont N, Le Goff S, Eldafrawy M, et al. Clinical behavior of second-generation zirconia monolithic posterior restorations: Two-year results of a prospective study with Ex vivo analyses including patients with clinical signs of bruxism. *J Dent.* 2019;91. doi: 10.1016/j.jdent.2019.103229.

Kolakarnprasert N, Kaizer MR, Kim DK, Zhang Y. New multi-layered zirconias: Composition, microstructure and translucency. *Dent Mater.* 2019;35(5):797–806. doi: 10.1016/j.dental.2019.02.017.

Koo H, Xiao J, Klein MI, Jeon JG. Exopolysaccharides produced by *Streptococcus mutans* glucosyltransferases modulate the establishment of microcolonies within multispecies biofilms. *J Bacteriol.* 2010;192(12):3024–32. doi: 10.1128/JB.01649-09.

Lai X, Si W, Jiang D, Sun T, Shao L, Deng B. Effects of small-grit grinding and glazing on mechanical behaviors and ageing resistance of a super-translucent dental zirconia. *J Dent.* 2017;66:23–31. doi: 10.1016/j.jdent.2017.09.003.

Liao C, Li Y, Tjong SC. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *Int J Mol Sci.* 2019;20(2). doi: 10.3390/ijms20020449.

Malhotra R, Halbig CE, Sim YF, Lim CT, Leong DT, Neto AHC, et al. Cytotoxicity survey of commercial graphene materials from worldwide. *NPJ 2D Mater Appl.* 2022;6(1). doi: 10.1038/s41699-022-00330-8.

Mao L, Kaizer MR, Zhao M, Guo B, Song YF, Zhang Y. Graded Ultra-Translucent Zirconia (5Y-PSZ) for Strength and Functionalities. *J Dent Res.* 2018;97(11):1222–8. doi: 10.1177/0022034518771287.

Matsumoto-Nakano M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Japan Dent Sci Rev.* 2018;54(1):22–9. doi: 10.1016/j.jdsr.2017.08.002.

Moreira Bastos Campos T, Marques de Melo Marinho R, de Oliveira Pinto Ribeiro A, Larissa do Amaral Montanheiro T, Carolina da Silva A, Thim GP. Microstructure and

mechanical properties of fully sintered zirconia glazed with an experimental glass. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2021;113. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104093.

Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2005;16(10):2346–53. doi: 10.1088/0957-4484/16/10/059.

Nkou Bouala GI, Etiemble A, Der Loughian C, Langlois C, Pierson JF, Steyer P. Silver influence on the antibacterial activity of multi-functional Zr-Cu based thin film metallic glasses. *Surf Coat Technol.* 2018;343:108–14. doi: 10.1016/j.surfcoat.2017.10.057.

de Oliveira Pinto Ribeiro A, Carolina da Silva A, de Camargo Ribeiro F, Sabino CF, Junqueira JC, de Paula Ramos L, et al. Biofilm formation and cell viability on monolithic zirconia with silver-doped sodalime glass. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2022;131. doi: 10.1016/j.jmbbm.2022.105222.

Pizzolatto G, Borba M. Optical properties of new zirconia-based dental ceramics: Literature review. *Ceramica.* 2021;67(383):338–43. doi: 10.1590/0366-69132021673833133.

Ramaraj S, Kim MA, Rosa V, Neelakantan P, Shon WJ, Min KS. Combined effect of melittin and DNase on *Enterococcus faecalis* biofilms and its susceptibility to sodium hypochlorite. *Materials.* 2020;13(17). doi: 10.3390/MA13173740.

Reale Reyes A, Dennison JB, Powers JM, Sierraalta M, Yaman P. Translucency and flexural strength of translucent zirconia ceramics. *J Prosthet Dent.* 2023 Apr;129(4):644–649. doi: 10.1016/j.prosdent.2021.06.019. Epub 2021 Jul 22. PMID: 34303523.

Rosa V, Yoshimura HN, Pinto MM, Fredericci C, Cesar PF. Effect of ion exchange on strength and slow crack growth of a dental porcelain. *Dent Mater.* 2009;25(6):736–43. doi: 10.1016/j.dental.2008.12.009.

Sayin Z, Ucan US, Sakmanoglu A. Antibacterial and Antibiofilm Effects of Boron on Different Bacteria. *Biol Trace Elem Res.* 2016;173(1):241–6. doi: 10.1007/s12011-016-0637-z.

Schünemann FH, Galárraga-Vinueza ME, Magini R, Fredel M, Silva F, Souza JCM, et al. Zirconia surface modifications for implant dentistry. *Mater Sci Eng C.* 2019;98:1294–305. doi: 10.1016/j.msec.2019.01.062.

Shofri MFSM, Zaid MHM, Wahab RAA, Matori KA, Aziz SHA, Fen YW. The effect of boron substitution on the glass-forming ability, phase transformation and optical performance of zinc-boro-soda-lime-silicate glasses. *J Mater Res Technol.* 2020;9(4):6987–93. doi: 10.1016/j.jmrt.2020.05.022.

da Silva AO, Fiorin L, Faria ACL, Ribeiro RF, Rodrigues RCS. Translucency and mechanical behavior of partially stabilized monolithic zirconia after staining, finishing procedures and artificial aging. *Sci Rep.* 2022;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-20120-y.

Stawarczyk B, Keul C, Eichberger M, Figge D, Edelhoff D, Lümke mann N. Three generations of zirconia: From veneered to monolithic. Part I. *Quintessence Int.* 2017;48(5):369–80. doi: 10.3290/j.qi.a38057.

Temel H, Atlan M, Türkmenoğlu B, Ertaş A, Erdönmez D, Çalışkan UK. In silico and biological activity evaluation of quercetin-boron hybrid compounds, anti-quorum sensing effect as alternative potential against microbial resistance. *J Trace Element Med Biol.* 2023;77. doi: 10.1016/j.jtemb.2023.127139.

Vila-Nova TEL, Gurgel de Carvalho IH, Moura DMD, Batista AUD, Zhang Y, Paskocimas CA, et al. Effect of finishing/polishing techniques and low temperature degradation on the surface topography, phase transformation and flexural strength of ultra-translucent ZrO₂ ceramic. *Dent Mater.* 2020;36(4):e126–39. doi: 10.1016/j.dental.2020.01.004.

Wertz M, Hoelzig H, Kloess G, Hahnel S, Koenig A. Influence of manufacturing regimes on the phase transformation of dental zirconia. *Materials.* 2021;14(17). doi: 10.3390/ma14174980.

Xie H, Cao T, Gomes JV, Castro Neto AH, Rosa V. Two and three-dimensional graphene substrates to magnify osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells. *Carbon N Y.* 2015;93:266–75. doi: 10.1016/j.carbon.2015.05.071.

Xu S, Yang X, Chen X, Shao H, He Y, Zhang L, et al. Effect of borosilicate glass on the mechanical and biodegradation properties of 45S5-derived bioactive glass-ceramics. *J Non Cryst Solids.* 2014;405:91–9. doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2014.09.002.

Young T, Alshanta OA, Kean R, Bradshaw D, Pratten J, Williams C, et al. *Candida albicans* as an essential “keystone” component within polymicrobial oral biofilm models? *Microorganisms.* 2021;9(1):1–23. doi: 10.3390/microorganisms9010059.

Zhang F, Spies BC, Vleugels J, Reveron H, Wesemann C, Müller WD, et al. High-translucent yttria-stabilized zirconia ceramics are wear-resistant and antagonist-friendly. *Dental Materials.* 2019;35(12):1776–90. doi: 10.1016/j.dental.2019.10.009.

Zhang Y, Lawn BR. Evaluating dental zirconia. *Dent Mater.* 2019;35(1):15–23. doi: 10.1016/j.dental.2018.08.291.

Zhang Y, Lawn BR. Novel Zirconia Materials in Dentistry. *J Dent Res.* 2018;97(2):140–7. doi: 10.1177/0022034517737483.

Zhang Y, Ma L. Optimization of ceramic strength using elastic gradients. *Acta Mater.* 2009;57(9):2721–9. doi: 10.1016/j.actamat.2009.02.037.

Zhu H, Zhou H, Liu M, Wei P, Ning G. Low temperature sintering and properties of CaO-B₂O₃-SiO₂ system glass ceramics for LTCC applications. *J Alloys Compd.* 2009;482(1–2):272–5. doi: 10.1016/j.jallcom.2009.03.179.