



AVALIAÇÃO DE COR E EFEITO ANTIMICROBIANO DE CERÂMICA CAD/CAM RECOBERTA POR UM GLAZE EXPERIMENTAL CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NANOTUBOS DE TiO_2

Palavras-Chave: CAD/CAM; Nanotubos; TiO_2 ; Glaze; Estabilidade de cor; rugosidade de superfície; antibacteriano

**Ana Paula Almeida das Virgens, Universidade Estadual de Campinas
Mayara Zaghi Dal Picolo, Universidade Estadual de Campinas
Carolina Bosso Andre, Universidade Federal de Minas Gerais
Kamila Rosamilia Kantovitz, Faculdade São Leopoldo Mandic
Orisson Gomes Ponce, Universidade Estadual Paulista
Paulo Noronha Lisboa-Filho, Universidade Estadual de São Paulo**

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Vanessa Cavalli Gobbo, Universidade Estadual de Campinas

INTRODUÇÃO:

Uma grande variedade de materiais restauradores indiretos a base de cerâmica (cerâmica vítrea, ou vítreas reforçadas), são cada vez mais fornecidos em blocos pré-processados para usinagem em sistemas CAD-CAM (*Computer Aided Design/Computer Aided Manufacturing*), técnica que permite a confecção automatizada de restaurações, com redução considerável do tempo de fabricação e excelente adaptação marginal após escaneamento e fresagem (1). Além da excelente adaptação, os materiais fabricados no sistema CAD-CAM possuem menores chances de falhas, e melhores propriedades mecânicas pelo fato destes serem confeccionados em condições controladas, sob parâmetros padronizados de temperatura e pressão (2). No entanto o produto final após a fresagem possui diferentes propriedades como diferenças no tamanho de partículas, porosidades e impurezas que podem influenciar nas características físicas e desempenho do material frente aos tecidos periodontais circundantes (4).

Diante disso pode-se inferir que a rugosidade superficial da restauração afeta muito sua permanência no ambiente oral, seja por prejuízo na estética do material ou o fato de influenciar na adesão bacteriana e formação de biofilme que pode acarretar possível carie secundária e doença periodontal (5). Dessa forma, o desenvolvimento de um glaze experimental contendo compostos bioativos como os nanotubos a base de TiO_2 , além de inédito, indica a possibilidade de fornecer propriedades antibacterianas ao glaze, (6) o agente que permanecerá diretamente em contato com o meio oral e periodonto. O desenvolvimento deste material com propriedades antibacterianas, sem alterar as propriedades ópticas e topografia se superfície da cerâmica, promove impactos diretos na Clínica Odontológica, tendo em vista o aumento da possibilidade de manutenção de saúde periodontal, manutenção das características estéticas e maior longevidade dessas restaurações indiretas, as quais são rotineiramente empregadas na Odontologia Restauradora.

METODOLOGIA:

Delineamento experimental.

O delineamento experimental deste estudo encontra-se descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental

Unidades experimentais	Blocos CAD/CAM a base de cerâmica feldspática	
	Aplicação do glaze+ nanopartícula	<ul style="list-style-type: none"> ● n-TiO₂ 0% ● n- TiO₂ 1% ● n-TiO₂ 2,5% ● n- TiO₂ 5%
Fatores	Tempo	T0 - Inicial (T0), T1- Após aplicação do glaze e sinterização
Variáveis resposta	<ul style="list-style-type: none"> ● Alteração de cor (Cielab \otimesE_{ab} e Ciede 2000 \otimesE₀₀, em T0 e T1) ● Rugosidade de Superfície (Ra, em T0 e T1) ● Adesão microbiana (UFC – Unidade formadora de colônia em T1) 	

Preparo dos corpos de prova e divisão dos grupos experimentais

Quarenta corpos de prova medindo (7.0 mm x 7.0 mm x 1.5 mm) de cerâmica feldspática (Tabela 2) foram seccionados em cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000, BUEHLER Ltda. Lake Buff, IL, USA), polidos (Arotec Ind. Com., São Paulo, Brasil) com discos abrasivos de carbeto de silício (Carbimet Paper Discs; Buehler, IL, EUA) (#600, #800 e #1200) por 60 s em cada lixa, sob resfriamento contínuo (Figura 1).



Figura 1: A: imagem representativa da obtenção das fatias de cerâmicas em cortadeira metalográfica. B: processo de polimento dos corpos de prova em politriz giratória e C: aspecto final dos corpos de prova.

Os corpos de prova foram lavados em cuba ultrassônica por 10 min, e distribuídos nos seguintes grupos experimentais (Figura 2):

n-TiO₂ 0% (Controle): aplicação de única camada de glaze (VITA Akzent Plus Powder + Fluid) com auxílio de pincel seguida de sinterização

n-TiO₂ 1%: aplicação de única camada de glaze (VITA Akzent Plus Powder + Fluid) com adição de 1% de n-TiO₂.

n-TiO₂ 2,5%: aplicação de única camada de glaze (VITA Akzent Plus Powder + Fluid) com adição de 2,5% de n-TiO₂.

n-TiO₂ 5%: aplicação de única camada de glaze (VITA Akzent Plus Powder + Fluid) com adição de 5% de n-TiO₂.

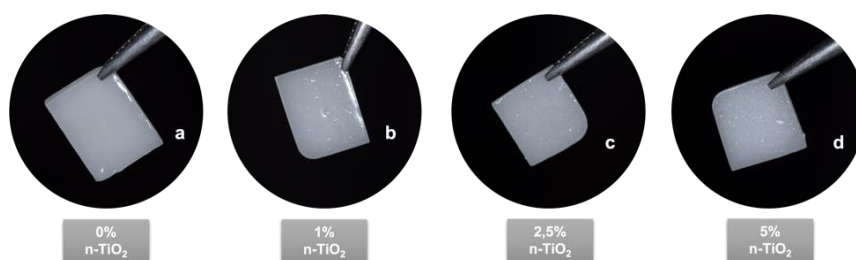


Figura 2: Amostras referentes aos grupos experimentais com sua respectiva concentração de n-TiO₂.

Aplicação do glaze

O glaze utilizado (VITA Akzent Plus Powder) foi misturado com o VITA Akzent Plus Powder Fluid para obter uma pasta de consistência não muito fina a fim de garantir o efeito de brilho na restauração final, e foi aplicado com o auxílio de um pincel chato sob a superfície dos corpos de prova e em seguida sinterizados de acordo com as recomendações do fabricante. Nos grupos em que se utilizou o glaze experimental foi adicionado 1, 2,5 e 5 % de n-TiO₂ (v/v) no pó (VITA Akzent Plus Powder) antes da diluição no seu solvente (VITA Akzent Plus Powder Fluid) (Figura 3).

Tabela 2. Composição e fabricante dos materiais utilizados

Material	Fabricante	Composição
Vita Blocks Mark II	Vita Zahnfabrik, Bad Sickingen, Alemanha)	<20% em peso de partículas feldspáticas (tamanho médio de partícula 4 µm) > 80% em peso de matriz de vidro
VITA Akzent Plus Powder	Vita Zahnfabrik, Bad Sickingen, Alemanha)	Vidro de aluminossilicato alcalino
VITA Akzent Plus Powder Fluid	Vita Zahnfabrik, Bad Sickingen, Alemanha)	Solvente



Figura 3: A: Proporção pó + líquido do glaze. B: processo de de manipulação do glaze e C: aplicação com auxílio de pincel sob a superfície do corpo de prova.

Rugosidade de superfície

A rugosidade média de superfície (Ra) foi determinada inicialmente (T0), após a aplicação do glaze e sinterização (T1) em rugosímetro de contato (Surfcorder SE 1700, Kosalab), com cut-off de 0,25 mm e velocidade de 0,5 mm/s. Três leituras foram realizadas rotacionando o corpo de prova em 45°, e a média por corpo de prova foi obtida.

Análise de alteração de cor (⊗E).

A cor foi determinada com posicionamento, iluminação e distância padronizada. A análise foi realizada inicialmente (baseline – T0), após aplicação do glaze seguida da sinterização (T1) com espectrofotômetro (Vita Easyshade Advance, VITA Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co. KG, Bad Sackingen, Alemanha), com obtenção dos valores médios de “L”, “a” e “b” após 3 leituras do mesmo corpo de prova, de acordo com o sistema CieLab (⊗E_{ab}). Além do cálculo de ⊗L, ⊗a e ⊗b, foi determinada a alteração de cor dos espécimes de acordo com o sistema CIEDE2000 (⊗E₀₀).

Formação de biofilme

O biofilme foi composto por cepas padrão de *Streptococcus mutans* (ATCC 700610), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) cultivados em 10 ml de caldo de infusão de cérebro e coração (BHI, Difco) com adição de 1% de sacarose a 37°C por 18 h em 5% de CO₂. A seguir o biofilme foi inoculando na placa 16,5 µL da suspensão, para que 5 amostras de cada subgrupo previamente esterilizados em radiação UV em câmara de fluxo por 30 min (15 min cada lado) fossem contaminadas, posicionando-as no fundo de uma placa de 24 poços de cultura (Costar Corning, NY, EUA), seladas e incubadas a 37°C em estufa de CO₂ durante 24h. As amostras foram individualmente transferidas para pendorfs com 1ml de solução salina estéril (NaCl a 0,9%) e sonicadas (Sonoplus HD 2200, 50 W, Bandelin Eletronic) por 5 min para remoção dos biofilmes da superfície, que em seguida foram plaqueados nas diluições de 10⁻¹ até 10⁻⁹ e incubadas em estufa de CO₂ a 37 °C por 24h. A contagem das placas determinou o número de UFC/mL. Os resultados foram compostos pela soma do total de micro-organismos por corpo de prova.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Rugosidade de Superfície

Tabela 3. Médias e desvios padrão da Rugosidade de Superfície (Ra)

Porcentagem de adição	Antes da aplicação do glaze	Após aplicação do glaze
n-TiO ₂ 0%	0.146 (0.063) Aa	0.037 (0.015) Bb
n- TiO ₂ 1%	0.137 (0.055) Aa	0.041 (0.014) Bab
n-TiO ₂ 2,5%	0.138 (0.063) Aa	0.051 (0.010) Bab
n- TiO ₂ 5%	0.161 (0.074) Aa	0.057 (0.020) Ba

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente em nível de significância de 5%, de acordo com ANOVA de modelos mistos com medidas repetidas e teste de Bonferroni. Letras maiúsculas comparam a aplicação ou não de glaze e letras minúsculas diferem as diferentes concentrações de n-TiO₂ incorporadas no glaze em cada tempo.

Houve diferenças estatísticas após a aplicação do glaze e nas diferentes concentrações de n-TiO₂ (Tabela 3). Houve diminuição da rugosidade após glazamento em todos os grupos, porém o grupo com acréscimo de 5% de n-TiO₂ apresentou maior rugosidade em relação aos demais, ou seja, quanto maior a concentração de partículas, maior a rugosidade.

Análise de Cor

Tabela 4. Médias e desvios padrão de alteração de cor de acordo com o sistema CIElab (ΔE_{ab}) CIEDE2000 (ΔE_{00})

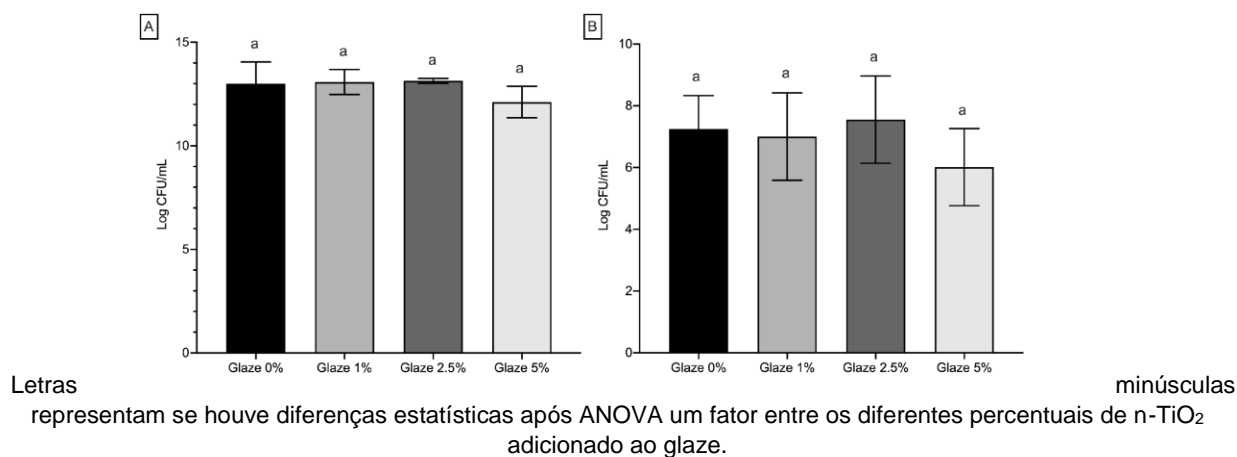
Porcentagem de adição	ΔE_{ab}	ΔE_{00}
n-TiO ₂ 0%	3.11 (1.25) a	3.20 (0.89) a
n- TiO ₂ 1%	3.57 (2.85) a	3.15 (1.51) a
n-TiO ₂ 2,5%	2.95 (1.36) a	2.79 (0.74) a
n- TiO ₂ 5%	6.75 (4.31) a	4.46 (2.50) a

Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente em nível de significância de 5%, de acordo com ANOVA um fator.

A incorporação de n- TiO₂ ao glaze não promoveu alterações de cor significantes em relação o grupo controle (sem n- TiO₂), tanto para a equação CIElab quanto CIEDE2000 (Tabela 4), independente da concentração de n- TiO₂ utilizada. Portanto, a incorporação do n- TiO₂ ao glaze, nestas concentrações, não acarreta prejuízo à suas propriedades óticas.

Formação de biofilme

Figura 4. Gráficos representativos de médias e desvios padrão da contagem das unidades formadoras de colônia (UFC/mL) para formação de biofilme de *S. Mutans* (A) e *S. Sanguinis* (B).



Embora os dados não tenham apresentado diferença estatística significativa é possível notar uma tendência de queda nas médias de unidades formadoras de colônia para ambos os microrganismos testados quando adicionado 5% de n-TiO₂ ao glaze. Estudos prévios relatam que a atividade fotocatalítica do TiO₂ ao ser irradiado por luz UV o torna um agente eficaz contra bactérias como *S. Mutans* e *S. Sanguinis* devido à liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (7). Estudos investigando diferentes concentrações de n-TiO₂ serão necessários para avaliar se maiores concentrações de n-TiO₂ ao glaze promoveria diminuição da formação de colônias, sem prejudicar as propriedades óticas e mecânicas do material.

CONCLUSÕES:

Embora a incorporação de diferentes concentrações de n-TiO₂ ao glaze não tenha promovido atividade antibacteriana diferente daquela promovida pelo glaze comercial, n-TiO₂ 5% apresentou tendência à diminuição da formação de biofilme sem afetar negativamente a cor e rugosidade de superfície do material testado.

BIBLIOGRAFIA

1. Guess PC, Schultheis S, Bonfante EA, Coelho PG, Ferencz JL, Silva NR. Allceramic systems: Laboratory and clinical performance. *Dent Clin North Am* 2011;55:333–352.
2. Taskonak B, Sertgiz A. Two-year clinical evaluation of lithia-disilicate-based allceramic crowns and fixed partial dentures. *Dent Mater.* 2006; 22(11): 1008-13.
3. Rashid H (2014) The effect of surface roughness on ceramics used in dentistry: a review of literature *European Journal of Dentistry* 8(4) 571-579.
4. Contreras L, Dal Piva A, Ribeiro FC, et al. 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(6):593–601. doi:10.2341/17-126-L
5. Oh GJ, Kim JW, Ji MK, et al. Antibacterial Activity and Fibroblast Cell Viability of Zirconia Coated with Glass Ceramic Containing Ag and NaF Nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol.* 2019;19(2):1035–1037. doi:10.1166/jnn.2019.15914
6. Kantovitz KR, Fernandes FP, Feitosa IV, Lazzarini MO, Denucci GC, Gomes OP, Giovani PA, Moreira KMS, Pecorari VGA, Borges AFS, Nociti FH Jr, Basting RT, Lisboa-Filho PN, Puppim-Rontani RM. TiO₂ nanotubes improve physico-mechanical properties of glass ionomer cement. *Dent Mater.* 2020 Mar;36(3):e85-e92. doi: 10.1016/j.dental.2020.01.018. Epub 2020 Feb 1. PMID: 32019690.
7. Abdulrazzaq Naji S, Jafarzadeh Kashi TS, Pourhajibagher M, Behroozibakhsh M, Masaali R, Bahador A. Evaluation of Antimicrobial Properties of Conventional Poly(Methyl Methacrylate) Denture Base Resin Materials Containing Hydrothermally Synthesised Anatase TiO₂ Nanotubes against Cariogenic Bacteria and *Candida albicans*. *Iran J Pharm Res.* 2018;17(Suppl2):161-172. PMID: 31011350; PMCID: PMC6447881.