CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA
VISEU

ADESÃO DO *STREPTOCOCCUS MUTANS* A DIFERENTES RESINAS UTILIZADAS NA CONFEÇÃO DE PROVISÓRIOS FIXOS

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Ana Cristina Fernandes Campos

Viseu, 2024

CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA
VISEU

ADESÃO DO *STREPTOCOCCUS MUTANS* A DIFERENTES RESINAS UTILIZADAS NA CONFEÇÃO DE PROVISÓRIOS FIXOS

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por
Ana Cristina Fernandes Campos

Orientadora
Professora Doutora Helena Salgado

Coorientadoras
Professora Doutora Ana Peixoto
Professora Doutora Patrícia Fonseca

Viseu, 2024

O mais alto de nós
não é mais que um conhecedor
mais próximo do oco e do incerto de tudo.

- Fernando Pessoa

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
por serem o meu primeiro exemplo,
o meu eterno refúgio.

Ao meu "Ó minha linda!",
que neste caminho
voou para brilhar mais alto.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Doutora Helena Salgado, pelo exemplo de rigor, perseverança e pela exigência colocada em mim desde o primeiro ao último instante.

Às minhas coorientadoras, Professora Doutora Ana Peixoto e Professora Doutora Patrícia Fonseca, por todo o suporte, prontidão e exemplo profissional.

Ao Laboratório Salivatec da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa (FMD-UCP), na pessoa da Professora Doutora Ana Peixoto pela disponibilidade e colaboração no estudo microbiológico da presente investigação.

Ao *Department of Materials and Ceramic Engineering* (CICECO), da Universidade de Aveiro, pela colaboração na Microscopia Eletrónica de Varrimento da presente investigação experimental.

Ao Professor Doutor Tiago Marques, pela disponibilidade e auxílio na confeção dos provetes impressos em 3D desta investigação.

Ao corpo docente da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa que contribuíram para o meu desenvolvimento profissional.

Aos meus companheiros de direção da Associação Nacional de Estudantes de Medicina Dentária (ANEMD) pela compreensão e por se entregarem comigo a todos os estudantes de Medicina Dentária.

Aos meus amigos, sem nomear, pela amizade, pela companhia e pelo estímulo que depositaram, sempre.

Aos meus amados pais, por serem de sempre e para sempre a minha bússola.

Ao meu astro mestre, avô Manuel, por toda a coragem que sem saber me deu.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os materiais provisórios face aos definitivos são mais propensos à colonização bacteriana devido à elevada porosidade e rugosidade de superfície e à menor adaptação marginal. A formação de um biofilme sob a superfície das restaurações provisórias pode resultar na inflamação dos tecidos gengivais e no desenvolvimento de cáries secundárias nos dentes pilares. Existem vários tipos de resinas que podem ser utilizadas para a confeção de provisórios fixos, nomeadamente, as resinas adaptadas ao sistema CAD-CAM. Os estudos do comportamento biológico destas são ainda escassos. O objetivo deste estudo é comparar a suscetibilidade de diferentes resinas utilizadas na confeção de provisórios para a adesão do *Streptococcus mutans (S. mutans).*

MATERIAIS E MÉTODOS: Foram confecionados 5 provetes de cada tipo de resina (*Tab 2000* – resina A, *Structur 3* – resina B, *Structur CAD* – resina C, *Dental Sand* – resina D), de forma circular e dimensões padronizadas (10X2mm). Os provetes foram submetidos ao mesmo protocolo de polimento. A adesão do *S. mutans* à superfície das quatro resinas foi avaliada através da interpretação de imagem de microscopia eletrónica de varrimento. Foi também efetuada a quantificação da biomassa aderida desse microrganismo à superfície dos provetes. Os resultados obtidos foram sujeitos a análise estatística, com um limiar de significância $p<0,05$.

RESULTADOS: As resinas A e B apresentaram maior densidade de adesão de *S. mutans* do que as resinas C e D, confirmado pela contagem das células visualizadas. Quanto à biomassa aderida, os resultados mostraram uma maior adesão nas resinas de impressão 3D e bis-acrílica. No entanto, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes resinas.

CONCLUSÃO: As diferenças de suscetibilidade para a adesão de *S. mutans* entre as resinas podem ser atribuídas às características físico-químicas inerentes a cada uma e às respetivas técnicas de processamento, no entanto sugerem-se novos estudos.

PALAVRAS-CHAVE: Prótese, Adesão Bacteriana, *Computer-Aided Design*, Restaurações provisórias, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Provisional materials, compared to permanent ones, are more prone to bacterial colonization due to their high porosity and surface roughness, as well as their poorer marginal adaptation. The formation of a biofilm on the surface of provisional restorations can promote inflammation of the gingival tissues and the development of secondary caries in the abutment teeth. There are several types of resins that can be used for the preparation of fixed provisional restorations, including new resins adapted to the CAD-CAM. However, studies on the biological behavior of these new resins are still scarce. This work aimed to compare the susceptibility of different resins used in the preparation of provisional fixed prosthesis to the adhesion of *Streptococcus mutans (S. mutans).*

METHODOLOGY: 5 specimens of each type of resin (Tab 2000 – resin A, Structur 3 – resin B, Structur CAD – resin C, Dental Sand – resin D) were prepared, shaped into circular forms with standardized dimensions (10x2mm). The specimens were subjected to the same polishing protocol. The adhesion of *S. mutans* to the polished surface of the four resins was evaluated through scanning electron microscopy. Additionally, the biomass of adhered microorganism to the surface of the specimens was quantified. The results obtained were subjected to statistical analysis, with a significance threshold of $p<0,05$.

RESULTS: Resins A and B exhibit higher density of *S. mutans* adhesion compared to resins C and D, as evidenced by the observed cell counts. Regarding the adhered biomass, 3D-printed and bis-acrylic resins showed higher adhesion on; however, the differences between the various resins were not statistically significant.

CONCLUSION: The differences in susceptibility to *S. mutans* adhesion among resins can be attributed to the inherent physicochemical characteristics of the resins and their respective processing techniques; however, further studies are suggested.

KEYWORDS: Prosthodontics, Bacterial Adhesion, Computer-Aided Design, Temporary Restorations, *Streptococcus mutans*.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS XIII

LISTA DE ACRÓNIMOS DE SIGLAS XV

1. INTRODUÇÃO 1

1.1. Coroas provisórias: Técnicas de confeção 4

1.2. Materiais para a confeção das coroas provisórias 6

1.3. Tecnologia CAD-CAM em reabilitação oral 7

1.3.1. Materiais para a confeção de coroas pela tecnologia CAD-CAM 9

1.4. Microbioma oral 10

1.4.1. Adesão do *Streptococcus mutans* às resinas acrílicas 12

1.5. Fatores que influenciam a adesão microbiana à superfície da resina 13

1.6. Objetivo do Estudo 14

2. MATERIAIS E MÉTODOS 15

2.1. Desenho do estudo 17

2.2. Amostra 17

2.3. Critérios de inclusão e exclusão da amostra 18

2.4. Variáveis em estudo 18

2.5. Protocolo experimental 18

2.5.1. Confeção dos provetes em resina acrílica e bis-acrílica 18

2.5.2. Confeção dos provetes em resinas do sistema CAD-CAM 20

2.5.3. Verificação da qualidade dos provetes 23

2.5.4. Polimento dos provetes 24

2.5.5. Adesão microbiana à superfície das resinas 25

3. RESULTADOS 29

3.1. Estudo da adesão à superfície do *S. mutans* por MEV 31

3.2. Quantificação da biomassa do *S. mutans* aderida nas resinas 31

4. DISCUSSÃO 36

4.1. Análise da adesão do *S. mutans* à superfície 39

4.2. Análise crítica e limitações da investigação desenvolvida 42

4.3. Trabalhos de investigação futuros 43

5. CONCLUSÕES 45

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1– Resinas estudadas. 17

Figura 2 – Desenho virtual do molde para provetes de resina convencional. 18

Figura 3 – Impressora UltiMaker3 3D. 19

Figura 4 – Molde obtido em PLA. 19

Figura 5 – Confeção dos provetes das resinas convencionais. 20

Figura 6 – Placa de vidro colocada sobre o molde. 20

Figura 7 – Desenho virtual de um provete. 21

Figura 8 – Imagem *do Software* CAD dos provetes. 21

Figura 9 – Fresadora VHF, K5, Alemanha. 21

Figura 10 – Mesa de impressão dos provetes em estudo. 22

Figura 11 – Impressora utilizada para confeção dos provetes da Resina D.....22

Figura 12 – Aparelho de processamento pós impressão. 23

Figura 13 – Paquímetro digital utilizado para verificar a dimensão dos provetes. 24

Figura 14 – Polimentos dos provetes confecionados.....24

Figura 15 – Descrição do procedimento para o crescimento dos microrganismos... 25

Figura 16 – Descrição da metodologia do estudo da adesão do *S. mutans* à superfície dos diferentes discos de resina. 26

Figura 17 – Descrição da metodologia para a quantificação da biomassa aderida aos diferentes discos de resina. 27

Figura 18 – Imagens de MEV das resinas A (A), B (B) C (C) e D (D) incubadas com *S. mutans* durante 24h. Número de células visualizadas: Resina A - 161; Resina B- estrutura de biofilme (contagem impossível); Resina C- 2; Resina D- 71. 32

Figura 19 – Biomassa do *S. mutans* aderida à superfície das resinas A-D. 33

LISTA DE ACRÓNIMOS DE SIGLAS

Bis-EMA – bisfenol A-glicidil metacrilato

CAD-CAM – *Computer Aided Design – Computer Aided Manufacturing*

DLP – *digital light processing*

FDM – *fused deposition modeling*

Gtfs – glucosiltransferases

ISP – *trypticase yeast extract*

kV – quilovolts

LCD – *liquid crystal display*

LED – *light emitting diode*

MEV – microscópio eletrónico de varrimento

mm – milímetro

mL – mililitro

nm – nanometro

PBS – *phosphate-buffered saline*

PEMA – polietilmetacrilato

pH – potencial hidrogeniónico

PLA – ácido polilático

PMMA – polimetilmetacrilato

SLA – estereolitografia

SLS – sinterização seletiva a laser

STL – *standard tessellation language*

UDMA – dimetacrilato de uretano

μL – microlitro

1. INTRODUÇÃO

O propósito de todos os procedimentos clínicos médico-dentários passa pela manutenção ou melhoria da qualidade de vida de um paciente em todas as funções relacionadas com a sua cavidade oral. Segundo o Glossário de Termos Prostodônticos, Prostodontia é a especialidade da Medicina Dentária referente ao diagnóstico, planeamento, reabilitação e manutenção da função oral, do conforto, da aparência e da saúde de pacientes com condições clínicas associadas à falta de dentes ou estrutura dentária e/ou tecidos maxilo-faciais (1).

Em reabilitação oral preconiza-se o restabelecimento de peças dentárias perdidas ou estruturalmente comprometidas, pretendendo-se recuperar a estabilidade ortopédica, funcional e estética do sistema estomatognático e, consequentemente, melhorar o bem-estar físico e psicológico do paciente. As perdas dentárias ou grandes destruições coronárias podem decorrer de lesão de cárie, doença periodontal, fratura ou trauma. Como opções terapêuticas disponíveis existem: próteses fixas sobre dentes (facetas, coroas, *inlays*, *onlays*) ou sobre implantes e próteses removíveis (acrílicas ou esqueléticas) (2,3).

São preocupações do Médico Dentista, em reabilitação oral, a prevenção da doença, o alívio da dor e a eficácia mastigatória. Deste modo, para se fazerem cumprir estes objetivos, na maioria das vezes é necessário substituir, em parte ou no seu todo, a estrutura dentária por meio de materiais biocompatíveis, estáveis e resistentes às condições da cavidade oral (2).

A eleição da opção reabilitadora é a chave para o sucesso terapêutico. Desta forma é fundamental a elaboração de uma história clínica completa, a recolha e avaliação das vantagens e desvantagens associadas a cada opção terapêutica, um adequado planeamento, tentando-se desta forma ir de encontro às expectativas do paciente. Existem fatores biológicos, mecânicos e estéticos que se encontram relacionados com o sucesso do tratamento e, consequentemente, com a sua aceitação por parte do paciente (4).

Em prótese fixa a seleção do material a utilizar (cerâmicas, ligas de metais nobres ou ligas de metais não nobres) tem impacto significativo na qualidade, durabilidade e estética das restaurações dentárias. Aquando da seleção do material existem determinados fatores a ter em conta, entre os quais o seu comportamento biológico. O material deve ser biocompatível, isto é, não deve causar reação adversa nos tecidos orais, nem conter materiais tóxicos para a polpa e/ou para os restantes tecidos orais. É também fundamental que o material seja suficientemente forte para

resistir a forças mastigatórias consideráveis e ao deslocamento durante a função. Procura-se obter materiais com superfícies suficientemente polidas, sem porosidades e que apresentem boa estabilidade dimensional e de cor (3, 4).

De acordo com o plano de tratamento definido, quando se reabilita um paciente, existem etapas estabelecidas que seguem uma sequência a ser respeitada. Por exemplo, em prótese fixa, uma destas etapas é a confeção de coroas provisórias que são um revestimento protetor dos dentes preparados enquanto se aguarda pela restauração definitiva (3). O objetivo é que o dente preparado seja protegido por uma restauração temporária e que o paciente se sinta confortável desde o preparo dentário até à colocação da restauração definitiva. Se a fase provisória do tratamento for bem gerida, o Médico Dentista consegue a confiança do paciente e, consequentemente, um sucesso promissor da restauração final (4).

Para além da proteção do dente preparado, a restauração provisória auxilia na estabilização da posição dentária, na manutenção da saúde gengival, na garantia da função mastigatória e na manutenção da fonética e da estética. Como o próprio nome indica trata-se de restaurações que devem ser utilizadas por um período limitado, no entanto, os materiais utilizados na sua confeção devem garantir resistência mecânica, facilidade de higienização, proteção pulpar (se aplicável), estética e facilidade de reparação. O sucesso do tratamento provisório é, na maioria das vezes, condicionado pela adaptação marginal, pela estabilidade dimensional e cromática, pela resistência a forças de tração e consequentes micro-fraturas (5).

1.1. Coroas provisórias: Técnicas de confeção

As restaurações provisórias podem ser fabricadas segundo dois métodos: fabrico personalizado, no qual através de uma matriz em silicone se replica a anatomia original do dente ou fabrico com materiais pré formados. Por sua vez, cada um destes métodos pode ser realizado de forma direta (a restauração é elaborada na boca do paciente, sobre o dente preparado), de forma indireta (elaborada fora da boca do paciente, no laboratório) ou a combinação das duas técnicas (4).

Na maioria das vezes as restaurações provisórias são confecionadas pela técnica direta, pelo baixo custo inerente e pela necessidade de um menor número de consultas. Para além disso, é uma técnica de fácil execução e que permite realizar alterações/correções em caso de necessidade. No entanto, sabe-se que devido à

exotermia que ocorre durante a polimerização do material restaurador pode ocorrer trauma dos tecidos dentários e gengivais. Para além do referido, a modificação da cor a curto prazo e a alta porosidade, inerente ao material empregue são apontados como desvantagens da técnica direta (6).

Quando a estrutura dentária remanescente inicial é insuficiente, as coroas pré formadas são a melhor solução, não descurando que uma coroa pré formada é mais suscetível à ocorrência de falhas na adaptação marginal, desajustes oclusais e contornos inapropriados (7).

A técnica indireta implica um trabalho *chairside* o que acarreta um custo acrescido, apesar de reduzir o tempo de consulta. Esta técnica tem-se revelado mais vantajosa em casos mais complexos. Afirma-se como a técnica de eleição quando há a necessidade de os provisórios serem utilizados por períodos mais longos, quando há presença de parafunções ou em casos de correções periodontais (8).

As restaurações provisórias obtidas pela técnica indireta apresentam uma maior durabilidade face às confecionadas pela técnica direta, uma melhor integridade e adaptação marginal e uma maior resistência à fratura aquando da inserção e desinserção repetidas. Para além disso, apresentam-se como restaurações com melhor estética e boa manutenção da saúde periodontal (8).

Outra vantagem desta técnica é o maior controlo no processo de polimerização dos materiais, nomeadamente da reação exotérmica inerente, assim como a libertação do monómero residual, diminuindo a probabilidade de ocorrência de danos tecidulares (5-7).

Na combinação das duas técnicas, direta e indireta, procede-se à adaptação da restauração provisória (previamente confecionada em laboratório) diretamente sobre o dente, com resina acrílica no interior da restauração confecionada. A principal vantagem deste método reside no facto da restauração ser elabora antes da consulta do preparo do dente, exigindo *a posteriori* menos ajustes clínicos. Obtém-se por esta técnica a confeção de restaurações provisórias com boa adaptação, boa oclusão e estética bastante satisfatória (8, 9).

1.2. Materiais para a confeção das coroas provisórias

Para a confeção de uma restauração provisória, existem vários tipos de materiais que podem ser utilizados: as resinas acrílicas como o polimetilmetacrilato (PMMA) e o polietilmetacrilato (PEMA) e as resinas bis-acrílicas, como o dimetacrilato de uretano (UDMA) e o bisfenol A-glicidil metacrilato (Bis-EMA). Mais recentemente surgiram as resinas adaptadas ao sistema CAD-CAM (*Computer Aided Design and Computer - Aided Manufacturing*) para fresagem ou para impressão tridimensional (3D) (9).

O PMMA foi descrito pela primeira vez, em 1843, por *Redtenbacher* e está convencionalmente disponível em sistema pó-líquido, onde o pó contém um polímero com aditivos e o líquido o monómero de metilmetacrilato juntamente com agentes de reticulação e inibidores (9,10).

Com o decorrer dos anos o PMMA ganhou popularidade pelas diversas aplicabilidades em Medicina Dentária dada a sua baixa densidade, boa relação custo-benefício, boa estética e facilidade de manuseamento (11). A investigação, tentando colmatar a vulnerabilidade deste tipo de material em absorver água e as suas limitações mecânicas, permitiu a melhoria das suas propriedades através da introdução de microfibras e nanopartículas (12). Apesar de ser o tipo de material mais comumente utilizado não deixa de apresentar duas grandes desvantagens: a produção de calor durante a reação de polimerização e a existência de monómero residual livre (metilmetacrilato) que pode ser fator irritante da polpa dentária e dos tecidos gengivais (13-15).

O PEMA é outro tipo de resina acrílica que pode ser utilizado para confeção de uma restauração fixa provisória. Em relação ao PMMA esta resina apresenta menor contração de polimerização e liberta menos calor durante a polimerização, no entanto, apresenta como desvantagens uma menor resistência mecânica e menor estabilidade de cor (15).

No final da década de 1990 foram introduzidas pela primeira vez as resinas compostas bis-acrílicas. Ao contrário das resinas acrílicas, estas resinas contêm monómeros de metacrilato de divinila e partículas de carga, resultando numa menor contração de polimerização e menor libertação de calor durante o processo de polimerização. Para além disso, estas resinas apresentam melhor estética, maior resistência abrasiva e menor desajuste marginal. Comercialmente estão disponíveis

em seringas de auto-mistura o que facilita o seu manuseamento e a redução da incorporação de ar, mas tornando-os materiais mais dispendiosos (16-18).

1.3. Tecnologia CAD-CAM em reabilitação oral

Na prática clínica atual, em reabilitação oral fixa, a introdução da tecnologia digital é cada vez mais uma realidade. O desenho de uma restauração indireta (parcial ou total) num *software* de desenho virtual (CAD), seguido da sua confeção auxiliada por computador (CAM), introduziu na prática clínica avanços importantes quer no planeamento, quer na execução e na previsibilidade dos tratamentos. Os sistemas CAD-CAM surgiram com o propósito de colmatar determinadas lacunas apontadas aos métodos convencionais de fabrico de restaurações dentárias, como por exemplo o método da cera perdida. O surgimento do sistema CAD-CAM permitiu otimizar a confeção de restaurações, diminuindo as etapas clínicas, o tempo de confeção e permitindo a utilização de novos materiais dentários (19, 20).

Segundo Logozzo (21), nos anos 70, Duret foi o pioneiro na incorporação da tecnologia CAD-CAM na Medicina Dentária, tendo sido responsável pelo desenvolvimento do primeiro sistema CAD-CAM que confecionava restaurações dentárias unitárias. Em 1987 foi lançado o sistema *CEREC®,* o primeiro sistema CAD-CAM com êxito clínico e comercial a introduzir o conceito de confeção de restaurações indiretas apenas numa consulta. De seguida, e até aos dias de hoje, foram desenvolvidos novos sistemas CAD-CAM, com sucessivos *updates* e novas funcionalidades (22, 23).

O funcionamento do sistema CAD-CAM resume-se a 3 etapas principais (24):

1 - a unidade de aquisição de informação – *scanner* intra-oral;

2 - o *software* de planeamento e desenho virtual;

3 - a unidade de confeção computadorizada: fresadora ou impressora 3D.

Na primeira etapa, o objetivo passa por adquirir informação da zona do preparo dentário e estruturas vizinhas de forma eficaz através de um aparelho de digitalização (24).

Na segunda etapa é utilizado um programa informático que permite ler e editar ficheiros *Standard Tessellation Language* (STL), que foram gerados pela digitalização. Atualmente, os programas existentes já incluem bibliotecas de desenhos pré-definidos de diferentes tipos de restaurações, facilitando o trabalho do operador (19).

Na última etapa do sistema CAD-CAM, os dados STL provenientes do *software* são lidos e é iniciado o processo mecânico de confeção da restauração. Este processo de confeção poderá funcionar de 2 formas: método subtrativo (fresagem) ou método aditivo (impressão) (25).

O método subtrativo consiste no corte de um bloco pré-fabricado de um determinado material dentário até alcançar o desenho estabelecido pelo *software* de desenho. Esta técnica também é designada como fresagem e é realizada por fresadoras que variam consoante o número de eixos de fresagem. Quanto mais complexa e detalhada é a restauração, maior o número de eixos de fresagem. A este método de confeção são enumerados alguns aspetos menos positivos: elevado desperdício de material; falta de precisão no contorno do interior da restauração, dado o tamanho das brocas utilizadas; incapacidade de se massificar a produção de restaurações (26, 27).

Por sua vez, o método aditivo consiste na união de materiais camada a camada, não havendo desperdício de material. Existem atualmente várias tecnologias de impressão 3D, baseadas em diferentes fenómenos de ligação (sinterização, reação química, fusão e solidificação) que utilizam diferentes tipos de materiais (cerâmicas, polímeros ou metais) e que utilizam fontes de energia de ativação diferentes (feixe de eletrões, calor, radiação laser ou ultravioleta, arco elétrico, plasma). A variedade de técnicas de fabrico aditivo que existem atualmente no mercado advêm das diferentes combinações que podem ser feitas destas três variáveis: fenómeno de ligação, tipo de material e fonte de energia de ativação. Consoante a técnica de impressão há diferenças na precisão, na velocidade, no custo e no tipo de material utilizado. Das técnicas existentes no mercado, podemos apontar como as mais utilizadas na confeção de coroas provisórias a *Stereolithography* (SLA), a *Digital Light Processing* (DLP), a *Liquid Crystal Display* (LCD), a *Fused Deposition Modeling* (FDM) ou a *Selective Laser Sintering* (SLS) (25, 28, 29).

A SLA tem por princípio básico a utilização de um laser ultravioleta (UV) capacitado a polimerizar e solidificar as camadas sucessivas do material, através da sensibilidade dos monómeros à radiação UV. A DLP é uma técnica muito semelhante à SLA, mas utiliza a projeção de foco de luz para curar a resina líquida fotossensível camada por camada. A fonte de luz geralmente é uma lâmpada ou um *Light Emitting diode* (LED) que emite luz UV. Este método considera-se mais rápido que a SLA, mas

a precisão é inferior, sendo mais direcionado para fabrico de restaurações provisórias (25).

A técnica LCD trata-se de uma técnica de impressão 3D que utiliza uma tela LCD para curar a resina fotossensível camada por camada. A fonte de luz geralmente é uma matriz de LEDs UV posicionada sob a tela LCD. Esta tela LCD atua como uma máscara que controla a passagem da luz UV em padrões específicos, correspondendo ao desenho digital, isto é, a tela LCD controla quais as partes da resina que são expostas à luz UV (22, 25).

No que respeita à técnica FDM, esta utiliza filamentos termoplásticos derretendo e depositando o material, camada por camada numa plataforma. Esta técnica é conhecida por ser menos precisa e com acabamento da superfície inferior quando comparada às técnicas descritas anteriormente (SLA, DLP e LCD). Apesar das limitações na resolução e precisão, esta técnica é valorizada pela sua acessibilidade, facilidade de uso e variedade de materiais que se podem utilizar (28, 29).

A SLS é uma técnica de impressão 3D que utiliza um laser para sinterizar, seletivamente, partículas de material em pó, fundindo-o camada por camada. O pós-processamento desta técnica exige um passo adicional de remoção do pó não sinterizado. Consequentemente, a textura granulada na superfície das peças confecionadas tornando imprescindível um pós-processamento direcionado ao acabamento de superfície (28).

1.3.1. Materiais para a confeção de coroas pela tecnologia CAD-CAM

O surgimento da tecnologia CAD-CAM permitiu a rápida confeção de restaurações provisórias, na maioria das vezes numa única consulta, e, a personalização precisa, uma vez que permite adaptar as restaurações à anatomia do preparo dentário (30).

Aquando da confeção de restaurações provisórias fixas, os materiais atualmente comercializados para a sua utilização pelo método subtrativo (fresagem) recaem sobre blocos resinosos pré-polimerizados. Trata-se de blocos de resinas (acrílicas, compostas, bis-acrílicas ou de poliéter-cetona - PEEK) pré-fabricadas e projetadas para serem facilmente fresadas, com resistência suficiente para conseguirem suportar as forças mastigatórias, resistentes a fraturas ou desgastes.

São materiais resinosos biocompatíveis que mantêm as suas dimensões após fresagem, garantindo um ajuste preciso e estável ao dente preparado. São resinas capazes de resistir melhor à degradação química provocada por alimentos, bebidas e saliva. Estas resinas estão comercialmente disponíveis em diversas tonalidades que mimetizam a cor natural dos dentes permitindo o fabrico de provisórios que se integrem perfeitamente na estética orofacial do paciente (20, 30).

Os materiais disponíveis para utilização em impressão 3D variam consoante a tecnologia e a finalidade dos produtos impressos (28). Atualmente, os materiais mais utilizados em Medicina Dentária no método aditivo são os polímeros, os metais e as cerâmicas (30, 31).

Apesar de terem sido desenvolvidos vários materiais de natureza polimérica para utilização no fabrico aditivo, a sua aplicação clínica é ainda limitada, uma vez que apresentam alguns inconvenientes (31).

As resinas dentárias utilizadas no fabrico aditivo são consideradas estáveis no meio oral, todavia carecem de melhores propriedades mecânicas, sendo uma grande desvantagem a elevada taxa de contração de polimerização durante o processo (31). Atualmente, a informação existente referente ao comportamento biológico das resinas de impressão 3D é ainda escassa. A investigação atual tem procurado compreender a formação de biofilme na superfície destas resinas, bem como a sua biocompatibilidade com os tecidos orais (32). A literatura sugere a necessidade de mais estudos que caracterizem estes materiais de modo que seja possível estabelecer os aperfeiçoamentos essenciais para a otimização desta tecnologia (33, 34).

1.4. Microbioma oral

A seguir ao microbioma intestinal, a cavidade oral apresenta o maior índice de diversidade microbiológica. A colonização microbiana da cavidade oral ocorre algumas horas após o nascimento maioritariamente por bactérias facultativas e aeróbias. A variabilidade microbiológica presente na flora oral está diretamente relacionada com os diferentes *habitats* que compõem a cavidade oral (dentes, sulco gengival, lábios, língua, mucosa jugal, palato, presença de próteses e outros materiais dentários) (35).

Considera-se que o conhecimento dos microrganismos presentes na cavidade oral é de extrema importância para a compreensão biológica e da patologia oral, assim como das proteínas produzidas e das interações estabelecidas com o hospedeiro (36).

Os microrganismos existentes na cavidade oral existem sobretudo como biofilmes (comunidades microbianas, altamente dinâmicas, estruturadas tridimensionalmente e organizadas numa matriz extracelular complexa) sobre as superfícies dentárias, a gengiva, a língua, as próteses (se presentes em boca) e os materiais restauradores (35). O biofilme dentário desenvolve-se em espessura, na consequência da divisão celular e da co-aderência de novos microrganismos. Com o aumento das camadas, o biofilme torna-se cada vez mais complexo e maduro, surgindo novas condições ambientais propícias à diminuição de oxigénio e consequentemente ao aparecimento de bactérias anaeróbias. Dentro do microbioma oral existe uma vasta diversidade de microbiomas dependentes das condições ambientais (temperatura, pH, potencial redox, hidrometria e a disponibilidade de nutrientes). Mais de 60% dos colonizadores primários do microbioma oral são *Streptococcus,* para além da *Actinomyces*, *Veilonella* e *Neisseria* (36, 37).

Na cavidade oral os biomateriais encontram-se permanentemente expostos a substâncias endógenas (microrganismos, enzimas, proteínas e polissacarídeos) e exógenas (alimentos e bebidas). Essas substâncias contribuem para um contínuo processo de biodegradação dos materiais utilizados na confeção dos dispositivos protéticos, podendo alterar as suas propriedades e consequentemente comprometer a sua função. A saliva, a mastigação, as mudanças químicas (pH) e as mudanças térmicas contribuem para um processo de degradação da matriz polimérica das resinas (38).

As moléculas de água existentes na saliva penetram o polímero conduzindo a uma difusão do monómero, as enzimas salivares degradam o polímero e reduzem a dureza e resistência ao desgaste do biomaterial (37).

Existe a possibilidade de colonização dos materiais por bactérias capazes de produzir biodegradação do material. Desta biodegradação do biomaterial podem decorrer duas grandes consequências: 1- a libertação de monómeros e aditivos para a cavidade oral, prejudiciais à saúde do paciente; 2- a diminuição das propriedades físicas, químicas e mecânicas dos materiais. A literatura evidencia que a libertação do monómero pode estimular o crescimento de bactérias sobre o material restaurador (38).

1.4.1. Adesão do *Streptococcus mutans* às resinas acrílicas

As resinas acrílicas são materiais suscetíveis à adesão de microrganismos e formação de biofilme. Microrganismos, como o *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), estão associados ao aparecimento de cárie dentária e têm desenvolvido, ao longo do tempo, múltiplos mecanismos para a sua sobrevivência, colonização e presença contínua na cavidade oral (35).

Na década de 1960, o *S. mutans* começou a ser amplamente estudado devido aos seus fatores de virulência para a cárie dentária. As principais características já estudadas desta bactéria são:

1) Capacidade de produzir grandes quantidades de ácidos orgânicos (como o ácido láctico, o acético, o fórmico e o propiónico) a partir da metabolização de carbohidratos;

2) Capacidade de sobrevivência em pH baixo (ambiente ácido);

3) Capacidade de sintetizar polissacarídeos extracelulares e intracelulares, a partir da metabolização da sacarose presente na dieta do hospedeiro, contribuindo para a adesão inicial, colonização e acumulação de biofilme nas superfícies dentárias e restaurações (36, 37).

Os polissacarídeos presentes na matriz do biofilme cariogénico, principalmente os glucanos, são sintetizados pelas glucosiltransferases (Gtfs) encontradas na película salivar e/ou à superfície de outros microrganismos. Estes são fundamentais na adesão do microrganismo aos dentes e ao estabelecimento de uma matriz mecanicamente estável. Para além disso, limitam a difusão de metabolitos e promovem a criação de microambientes altamente ácidos e propícios à patogénese da cárie dentária (38-40).

As Gtfs são constituídas por dois domínios funcionais:

1. um domínio catalítico amino-terminal que se liga ao substrato e o hidrolisa;

2. um domínio carboxil-terminal que determina a natureza do glucano sintetizado.

Todas as Gtfs exibem um papel importante na formação de um biofilme, uma vez que participam da síntese de uma variedade de glucanos com estruturas e funções distintas. A construção de uma matriz insolúvel rica em polissacarídeos é uma caraterística de virulência que ajuda na diferenciação de *S. mutans* de outras espécies acidogénicas e acidúricas. Acontece que a síntese de glucanos pelas Gtfs (glucosiltransferases B e glucosiltransferases C) capacita a adesão de novas células de S. mutans ao substrato colonizado, por ação das proteínas de ligação aos glucanos

(*Glucan-Binding Proteins)*, que se encontram na superfície da bactéria, aumentando o biovolume do biofilme (39, 40).

Na cavidade oral, a *Candida albicans* (*C. albicans*) por si só consegue formar biofilmes e causar infeções. No entanto, sabe-se que este fungo pode formar biofilmes sinérgicos com o *S. mutans*. Estudos têm demonstrado que esta interação simbiótica mediada por Gtfs, específica e particular entre *C. albicans* e *S. mutans* é relevante para o aparecimento e progressão de lesões de cárie, condicionando o microbioma oral (41). Ainda que a *C. albicans* não seja verdadeiramente reconhecida como um verdadeiro patógenio da cárie dentária, é reconhecida como um agente secundário no processo de lesões de cárie. Foi demonstrado que GtfB, secretada por *S. mutans*, tem a capacidade de se vincular a diferentes locais da superfície celular da *C. albicans*. Sob determinadas condições da cavidade oral a C*. albicans* demonstrou acidificar o ambiente, influenciando positivamente o crescimento e o metabolismo do *S. mutans* (42, 43).

1.5. Fatores que influenciam a adesão microbiana à superfície da resina

Estudos demonstraram que a rugosidade de superfície consegue influenciar significativamente a quantidade de adesão microbiana na superfície das estruturas protéticas (44). A rugosidade da superfície e alterações nesta propriedade influenciam significativamente a adesão e retenção bacteriana (45, 46).

Um fator determinante na durabilidade dos biomateriais dentários é a diminuição da acumulação da placa microbiana na superfície do material. Preconiza-se, consequentemente, a obtenção de superfícies polidas e lisas nas resinas. Existem dois métodos possíveis para o polimento da superfície de resinas: o polimento por via mecânica ou o polimento por meio químico (47). O polimento mecânico consiste na abrasão da superfície com discos de grão sucessivamente mais fino, enquanto, por meio químico o material é imerso num banho de monómero de metilmetacrilato a 75ºC por 10 segundos. O polimento por meio químico para além de eliminar a sequência de polimento por método mecânico permite a obtenção de uma superfície livre de irregularidades. No entanto, a resistência mecânica do material é afetada, sendo o risco de deformação do material, consequentemente, aumentado (48).

Atualmente, as resinas acrílicas ainda são os materiais mais utilizados na confeção de restaurações fixas provisórias. A tendência do mercado tem vindo a ser introduzir materiais com melhores propriedades físicas e mecânicas que permitem ultrapassar as limitações inerentes a este tipo de biomaterial (30).

A introdução da era digital na Medicina Dentária, nomeadamente da tecnologia CAD-CAM, tem vindo a demonstrar a possibilidade de contornar alguns dos desafios apresentados pelas resinas convencionais. Por sua vez, a introdução destas novas resinas no mercado impulsiona a necessidade de novos estudos que permitam compreender as características biológicas, físicas e mecânicas inerentes a estes novos biomateriais (24).

Por diversas razões, os provisórios fixos acabam por permanecer por longos períodos na boca do paciente levando à colonização microbiana da sua superfície o que pode condicionar o êxito da reabilitação. As resinas utilizadas para a confeção destes provisórios apresentam elevada porosidade e rugosidade de superfície bem como baixa adaptação marginal, o que os torna propensos à colonização microbiana podendo resultar na inflamação dos tecidos gengivais e no desenvolvimento de lesões de cárie nos dentes pilares (13). Deste modo é importante compreender a suscetibilidade dos diferentes tipos de resina para a adesão microbiana, nomeadamente as resinas de CAD-CAM, de forma a selecionar o material mais adequado a cada reabilitação oral.

1.6. Objetivo do Estudo

Pelo descrito anteriormente justifica-se esta investigação. Através de um estudo laboratorial *in vitro*, define-se como principal objetivo comparar a suscetibilidade de diferentes resinas utilizadas na confeção de provisórios de prótese fixa para a adesão do *S. mutans.*

Para alcançar o objetivo exposto definiu-se a seguinte hipótese nula:

H_0: Não existem diferenças estatisticamente significativas na adesão do *S. mutans* à superfície de diferentes resinas utilizadas na confeção de provisórios fixos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Desenho do estudo

O presente estudo é do tipo experimental *in vitro* e consistiu na avaliação qualitativa e quantitativa da adesão do *S. mutans* a quatro tipos de resinas habitualmente utilizadas na confeção de restaurações provisórias em prótese fixa após incubação por um período de 24h.

2.2. Amostra

Foram alvo deste estudo quatro resinas de provisórios fixos (Figura 1): uma resina acrílica (Tab 2000, Kerr™, Suíça - resina A), uma resina bis-acrílica (Structur 3, VOCO©, Alemanha - resina B), uma resina de fresagem (Structur CAD, VOCO©, Alemanha - resina C) e uma resina de impressão 3D (Dental Sand, HARZ Labs©, Rússia - resina D).

Figura 1 – Resinas estudadas.

Todas as resinas foram manuseadas de acordo com as indicações do fabricante.

Para a realização deste estudo experimental foram utilizados cinco provetes de cada tipo de resina, de forma circular e de dimensões padronizadas (10mm de

diâmetro e 2mm de espessura), totalizando 20 provetes em estudo. A seleção dos provetes foi realizada respeitando os critérios de inclusão e exclusão que se seguem.

2.3. Critérios de inclusão e exclusão da amostra

Os provetes em estudo foram avaliados de acordo com a qualidade de superfície e dimensões pré-definidas. Os que não cumpriam com os critérios de qualidade foram excluídos da avaliação.

2.4. Variáveis em estudo

Para este estudo foram definidas as seguintes variáveis:

- Variável dependente: adesão microbiana.
- Variável independente: tipo de resina (resina acrílica, resina bis-acrílica, resina de fresagem, resina de impressão 3D).

2.5. Protocolo experimental

2.5.1. Confeção dos provetes em resina acrílica e bis-acrílica

Para a confeção dos provetes em resina acrílica e resina bis-acrílica (Resinas A e B respetivamente) foi primeiramente confecionado um molde com as dimensões pré-definidas para os provetes:

- Desenho virtual do molde (Figura 2) num programa informático CAD (SolidWorks®, Dassault Systémes S.A, França).
- Desenho CAD convertido num ficheiro de impressão STL.

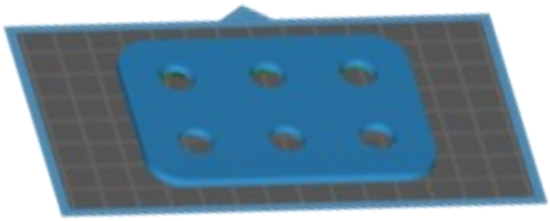


Figura 2 – Desenho virtual do molde para provetes de resina convencional.

- Impressão do molde numa impressora 3D da tecnologia FDM (UltiMaker^3 3D, Holanda – Figura 3) com ácido polilático (PLA).

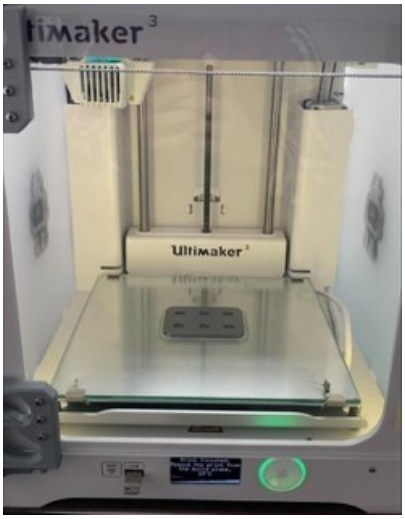


Figura 3 – Impressora UltiMaker3 3D.

- O molde obtido em PLA (Figura 4) foi vaselinado e posteriormente foi colocada a resina A em cada poço. Esta foi preparada misturando corretamente as proporções de pó e líquido recomendadas pelo fabricante num recipiente adequado e com recurso a uma espátula de metal, para que todas as partículas se incorporassem no monómero. No caso da resina B, o cartucho foi inserido no dispensador e utilizada uma ponta auto-misturadora (Figuras 5i, 5ii e 5iii).

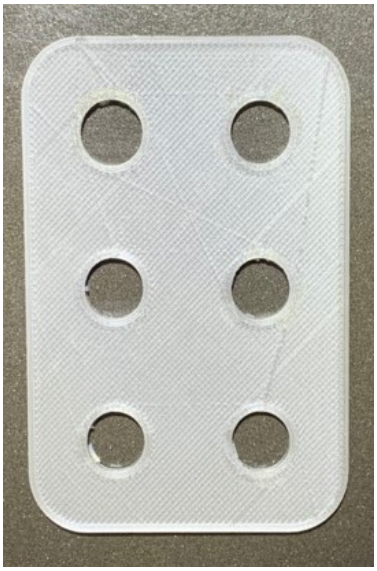
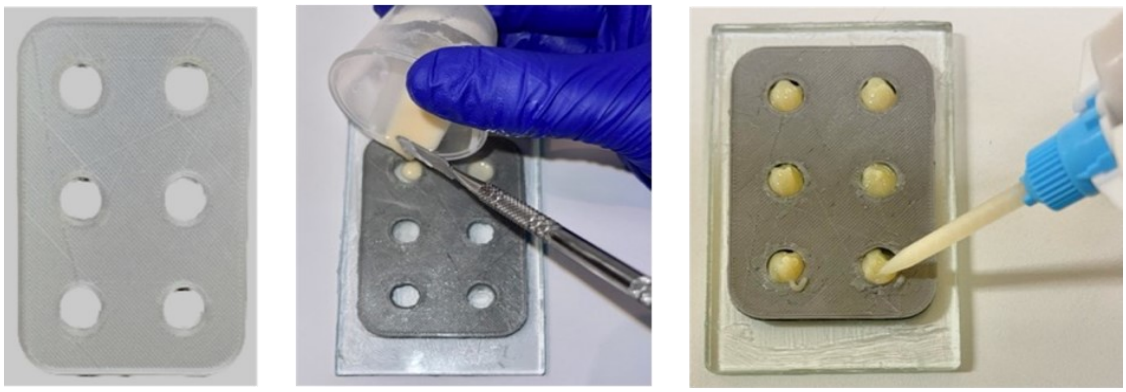


Figura 4 – Molde obtido em PLA.



i) Molde para confeção dos provetes vaselinado sob placa de vidro. ii) Confeção dos provetes da Resina A. iii) Confeção dos provetes da Resina B.

Figura 5 – Confeção dos provetes das resinas convencionais.

- Após a colocação da resina, o molde foi mantido sob pressão entre duas placas de vidro (Figura 6), enquanto decorria a reação de polimerização.
- Depois de ocorrer a polimerização os provetes foram retirados do molde e armazenados em mangas esterilizadas, etiquetadas e seladas para evitar qualquer deterioração até à execução do polimento.

Figura 6 – Placa de vidro colocada sobre o molde.

2.5.2. Confeção dos provetes em resinas do sistema CAD-CAM

Para a confeção dos provetes em resina do sistema CAD-CAM (Resinas C e D) realizou-se o protocolo que se segue:

- Desenho virtual do provete com as dimensões pré-definidas recorrendo a um programa informático de CAD (SolidWorks®, Dassault Systémes S.A, França) - Figura 7.

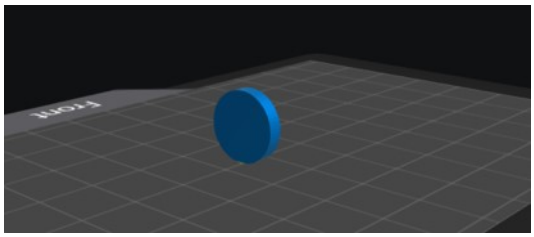


Figura 7 – Desenho virtual de um provete.

- Desenho CAD convertido em ficheiro STL.
- Resina C: o ficheiro STL com o desenho dos provetes a serem fresados no disco (Figura 8) foi enviado para a fresadora (VHF K5, Alemanha - Figura 9) que cortou os provetes com recurso a brocas (método de subtração).

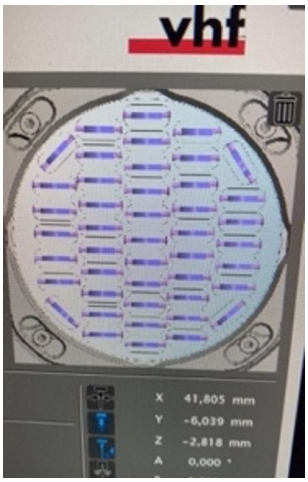


Figura 8 – Imagem do *Software* CAD dos provetes.

Figura 9 – Fresadora VHF, K5, Alemanha.

- Resina D: o ficheiro STL do provete foi utilizado num programa informático (Chitubox, CDB-Tech, China) onde foi criada a mesa de impressão (Figura 10). O ficheiro de impressão foi enviado para a impressora 3D (Phrozen Sonic Mini 8K, Phrozen, Taiwan), que construiu os provetes camada a camada por fotopolimerização (Figura 11i). Antes de dar início ao processo de impressão a resina após ser agitada levemente foi depositada no tanque da impressora (Figura 11ii).

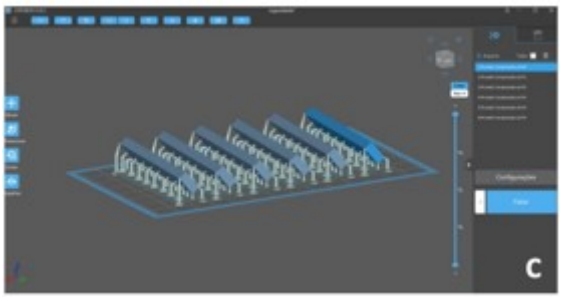
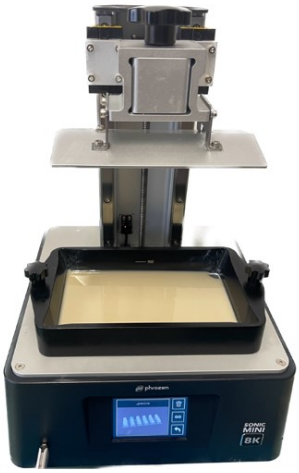


Figura 10 – Mesa de impressão dos provetes em estudo.

i) Impressora *Phrozen Sonic Mini 8K.*



ii) Resina D depositada no tanque de impressão, antes do iníco da impressão.

Figura 11 – Impressora utilizada para confeção dos provetes da Resina D.

- Depois de finalizado o processo de impressão, os provetes aderidos à plataforma elevatória da impressora foram cautelosamente removidos com uma espátula.
- Posteriormente, foi efetuado o processamento pós-impressão dos provetes seguindo as normas instruídas pelo fabricante da resina, nomeadamente:

1. Lavagem em banho ultrassónico com álcool isopropílico a 90% durante 10 min, no aparelho de pós-processamento (ANYCUBIC Wash and Cure Plus, ANYCUBIC©, Estados Unidos – Figura 12);
2. Colocação no forno (POL-EKO Aparatura, Wodzisław Śląski, Polónia), a 80ºC durante 30 min;
3. Polimerização durante 10 minutos no aparelho de pós-processamento (ANYCUBIC Wash and Cure Plus, ANYCUBIC©, Estados Unidos – Figura 12), com radiação UV de 405nm durante 10 min;

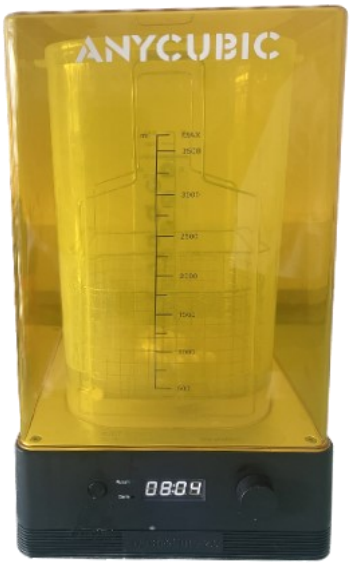


Figura 12 – Aparelho de processamento pós impressão.

- Remoção dos suportes que uniam os provetes à plataforma elevatória.
- Os provetes fresados e impressos foram depois armazenados em mangas esterilizadas, etiquetadas e seladas para evitar qualquer deterioração até à execução do polimento.

2.5.3. Verificação da qualidade dos provetes

A qualidade dos diferentes provetes obtidos foi avaliada quanto à integridade física e às dimensões:

- A integridade física foi validada pela ausência de fraturas ou irregularidades de superfície detetáveis a olho nu.

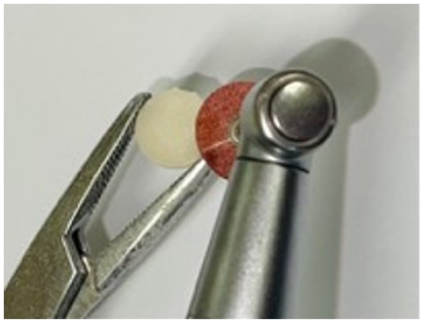
- A verificação das dimensões pré-definidas foi feita com recurso a um paquímetro digital (ABSOLUTE Digimatic Caliper Series 551, Mitutoyo Europe GmbH – Figura 13).

Figura 13 – Paquímetro digital utilizado para verificar a dimensão dos provetes.

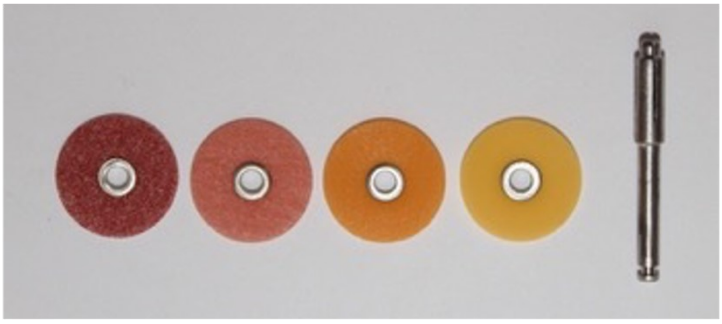
Após a verificação da qualidade dos provetes, observou-se que todos cumpriam os critérios de inclusão na amostra.

2.5.4. Polimento dos provetes

Todos os provetes foram submetidos ao mesmo protocolo de polimento mecânico com discos de polimento flexível com recobrimento de óxido de alumínio. Foram utilizados discos *Sof-Lex*™ (3M™ ESPE, Suíça) com recurso a um mandril metálico para contra-ângulo (Ti-Max X95L da NSK© - Figura 14i). Foram utilizados 4 tipos de gramagem de abrasividade, tendo sido a sequência de polimento do mais grosso (vermelho) até ao mais fino (amarelo), como demonstrado na Figura 14ii. O protocolo de polimento foi realizado sempre pelo mesmo operador. Cada provete foi polido durante 30 segundos com cada disco.



i) Polimento com contra-ângulo *Ti-Max X95L* da *NSK*.



ii) Discos de polimento e sequência seguida (da esquerda para a direita).

Figura 14 – Polimentos dos provetes confecionados.

2.5.5. Adesão microbiana à superfície das resinas

a) Condições de crescimento do *S. mutans*

Neste estudo foi usada a espécie *S. mutans* DSM 20523 armazenada a -80ºC em meio de crescimento líquido *Trypticase Yeast Extract* (ISP) com 20% de glicerol.

Esta bactéria foi subcultivada em ISP agár, e antes de cada ensaio, uma colónia isolada foi inoculada em 10mL de ISP e colocada a crescer anaerobiamente a 37ºC durante a noite. Uma alíquota desta cultura (300μL) foi transferida para meio líquido fresco e colocada a crescer nas mesmas condições.

Para os ensaios de adesão e quantificação da biomassa, a cultura de *S. mutans* crescida durante a noite e na fase estacionária, foi diluída em meio ISP e a sua turbidez foi ajustada a 0,5 Macfarland (OD600nm ≈0,7-0,9 que corresponde a uma concentração final de ≈10^8 unidades formadoras de colónia por mililitro) (Figura 15).

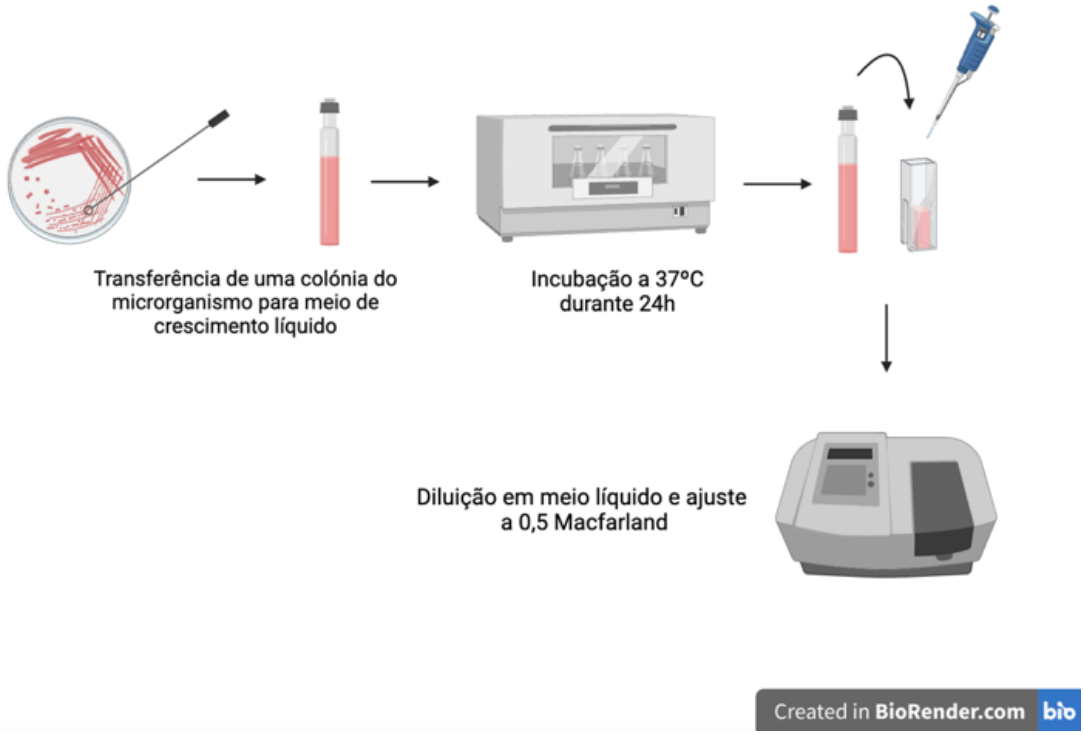


Figura 15 – Descrição do procedimento para o crescimento dos microrganismos.

b) Estudo de adesão microbiana por Microscopia Eletrónica de Varrimento (MEV)

Os provetes foram submetidos a radiação UV durante 30 minutos para evitar contaminação. Posteriormente, uma suspensão microbiana de *S. mutans* (1mL por poço) foi distribuída igualmente numa microplaca de 24 poços contendo os discos dos diferentes tipos de resina que foram incubados a 37ºC durante 24h.

Findo o tempo de incubação as amostras foram fixadas em glutaraldeído (2,5% em PBS) durante 40 minutos à temperatura ambiente. Depois de 3 lavagens com solução tampão [Phosphate-buffered saline (PBS)] as amostras foram desidratadas com uma série de soluções em gradiente de etanol (15%, 30%, 50%, 70%, 90%, 96%, 3 X 100%, 15 minutos cada). Os discos foram secos e colados em *stubs* e foram revestidos com ouro-paládio, examinados num microscópio eletrónico de varrimento (Hitachi S-4100) operado a 4.0kV. Foram observados e analisados, aleatoriamente, três campos de cada provete. Neste estudo foi utilizado um disco de cada grupo de resinas. (Figura 16).

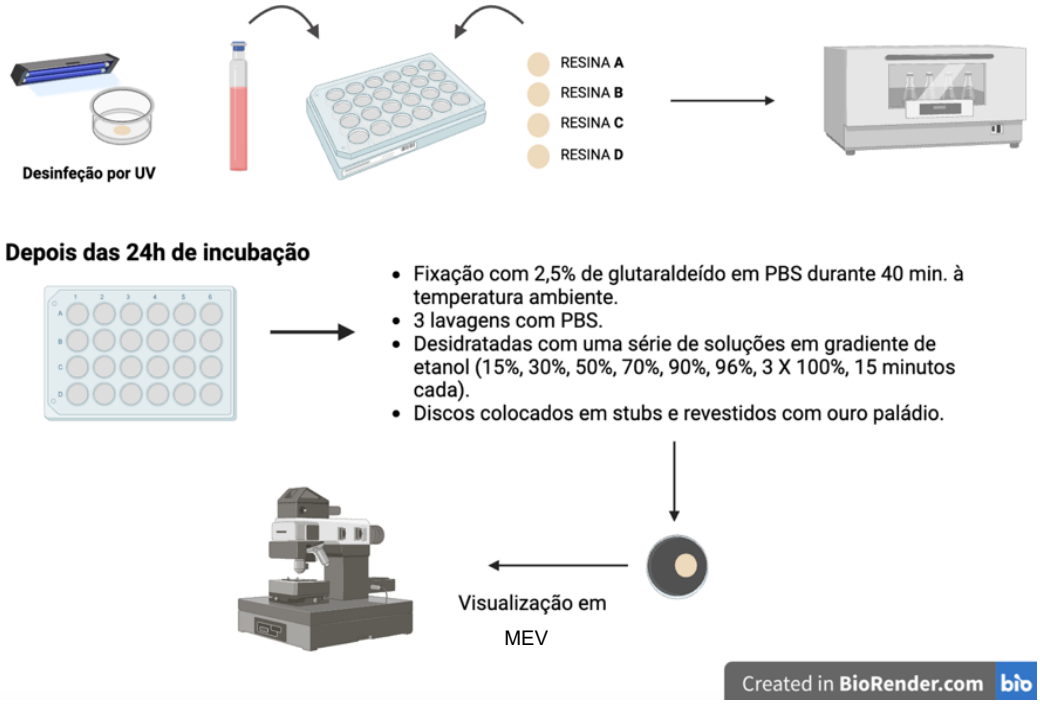


Figura 16 – Descrição da metodologia do estudo da adesão do *S. mutans* à superfície dos diferentes discos de resina.

As micrografias obtidas por MEV mostram imagens representativas da superfície de cada disco em diferentes pontos. Para além da análise qualitativa por

observação das micrografias foi ainda realizada uma análise quantitativa relativa por contagem do número de células visualizadas.

c) Quantificação da biomassa através da coloração de violeta de cristal

Os provetes foram submetidos a radiação UV durante 30 minutos para evitar contaminação. Posteriormente, uma suspensão microbiana de *S. mutans* (1mL por poço) foi distribuída igualmente numa microplaca de 24 poços contendo os discos dos diferentes tipos de resina que foram incubados a 37ºC durante 24h.

Depois da incubação, o meio de cultura foi aspirado e as amostras foram lavadas 3 vezes com PBS. Os discos foram transferidos para poços vazios e fixados com metanol a 95%. As amostras foram novamente lavadas com PBS e coradas com uma solução de violeta de cristal a 0,5% durante 15 minutos, lavadas com PBS e secas à temperatura ambiente. Depois de secas o violeta de cristal foi dissolvido em ácido acético a 33% e mantido à temperatura ambiente durante 30 minutos. A absorvância a 570 nm foi lida num leitor de microplacas (Synergy TM HT Multi-Detection Microplate Reader-Biotek®) - Figura 17.

Foram realizados dois ensaios independentes com um provete de cada resina.

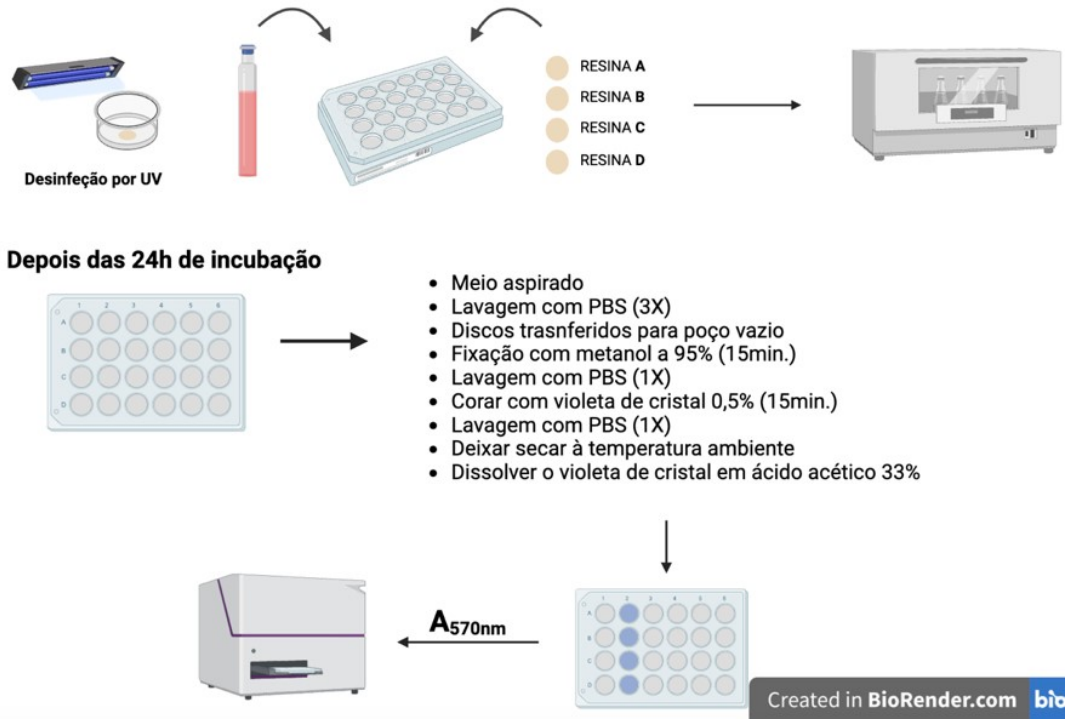


Figura 17 – Descrição da metodologia para a quantificação da biomassa aderida aos diferentes discos de resina.

A análise estatística dos estudos da biomassa foi realizada recorrendo ao *software* GraphPad Prism 9.0.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os resultados são apresentados como a média ± desvio padrão de 2 ensaios independentes. A significância da concentração microbiana entre os provetes de resina, e entre os dois ensaios, foi avaliada através da análise de variância ANOVA a uma dimensão. Foram considerados significativos valores de $p<0,05$.

3. RESULTADOS

A adesão do *S. mutans* à superfície polida das quatro resinas estudadas foi avaliada através da visualização em MEV e da quantificação da biomassa aderida.

3.1. Estudo da adesão à superfície do *S. mutans* por MEV

A adesão à superfície das resinas do biofilme da bactéria Gram+ *S. mutans* foi analisada por MEV. Para isso, o microrganismo foi incubado na presença dos provetes dos diferentes tipos de resinas em estudo durante 24h. O tempo de incubação foi escolhido de acordo com estudos anteriores.

A Figura 18 corresponde às micrografias obtidas por MEV que ilustram a adesão e complexidade do biofilme aderido à superfície das diferentes resinas. É possível observar que as resinas A e B apresentam maior densidade de adesão de *S. mutans* do que as resinas C e D, o que é confirmado pela contagem das células visualizadas. É importante referir que no caso na resina B, as imagens de MEV mostram claramente a estrutura tridimensional típica de biofilme, sendo possível observar a matriz extracelular polimérica (composta por polímeros como polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular) como uma substância amorfa que encapsula as células, sendo impossível a contagem das células visualizadas. Os resultados demonstram que a resina de fresagem foi aquela em que houve menor adesão microbiana seguida da resina de impressão 3D. Pelo contrário a resina bis-acrílica foi a que demonstrou maior adesão.

As micografias foram apenas adquiridas na superfície polida de cada resina.

3.2. Quantificação da biomassa do *S. mutans* aderida nas resinas

A quantificação da biomassa do *S. mutans* aderida nas diferentes resinas foi realizada após a incubação da bactéria com cada disco de resina por um período de 24h. Para tal, e após o período de incubação as células foram fixadas com metanol 95% e coradas com violeta de cristal (49). A absorvância a 570nm resultante da dissolução do violeta de cristal com ácido acético a 33% foi lida. A biomassa de *S. mutans* aderida é diretamente proporcional à absorvância a 570nm. Na Figura 19 são apresentados os resultados obtidos na quantificação da biomassa em todas as resinas. Os resultados mostram uma maior adesão nas resinas de impressão 3D e

bis-acrílica, no entanto, a quantidade de biomassa aderida é semelhante nas 4 resinas avaliadas, não havendo diferenças estatísticas entre eles (ANOVA, p>0,05).

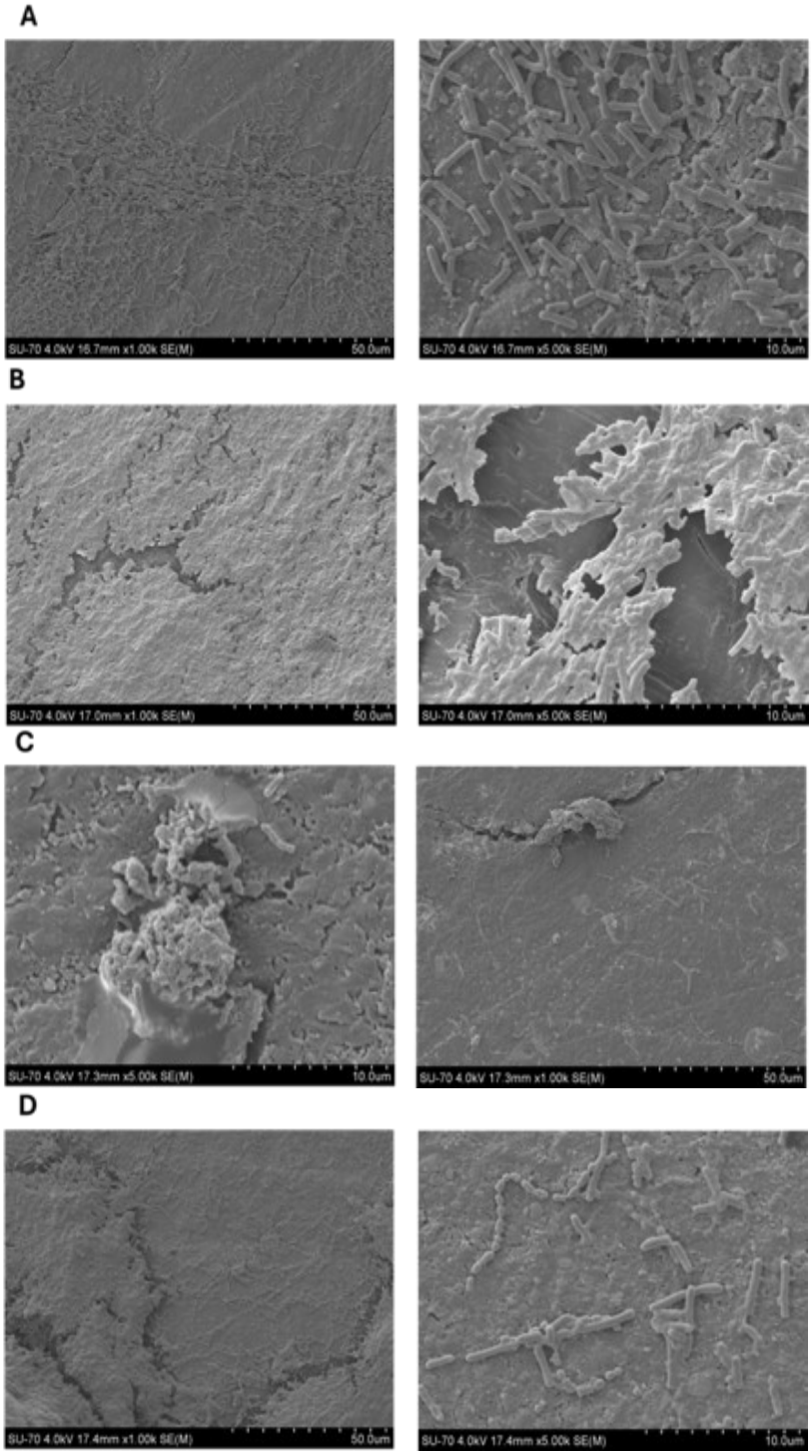


Figura 18 – Imagens de MEV das resinas A (A), B (B) C (C) e D (D) incubadas com *S. mutans* durante 24h. Número de células visualizadas: Resina A - 161; Resina B- estrutura de biofilme (contagem impossível); Resina C- 2; Resina D- 71.

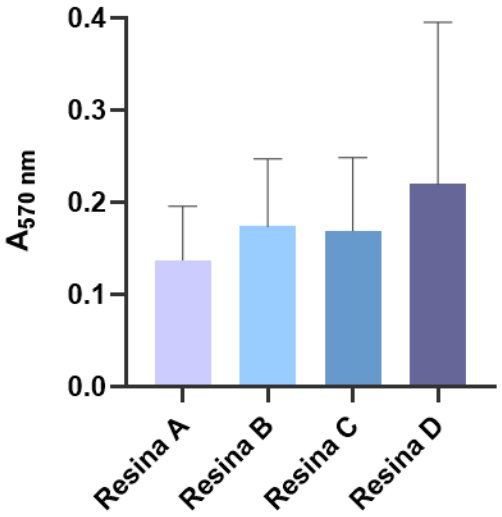


Figura 19 – Biomassa do *S. mutans* aderida à superfície das resinas A-D.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo experimental teve por objetivo avaliar a adesão do *S. mutans* a quatro resinas utilizadas na confeção de provisórios fixos.

Numa reabilitação oral fixa a seleção do tipo de material restaurador provisório deve ser criteriosa, uma vez que estas restaurações não representam apenas o mero papel temporário de ficar em boca enquanto se aguarda pela restauração definitiva. A restauração provisória para além de desempenhar um importante papel na proteção dos dentes preparados, contribui também para a manutenção da função mastigatória, da estética e, consequentemente, do conforto para o paciente tanto em função como na aparência. Para além disso, os provisórios fixos devem preservar a saúde periodontal ou contribuir para o restabelecimento da mesma quando esta está comprometida. Embora, como o próprio nome indica, se trate de restaurações provisórias, estas podem por diversas razões permanecer por longos períodos na cavidade oral, estando expostas a desafios biológicos e mecânicos significativos (50, 51).

Quando colocados na cavidade oral, os materiais dentários enfrentam um ambiente com características particulares que promovem uma biodegradação constante. Desta forma, estes materiais têm de ter características que lhes permitam resistir a esses fatores adversos, tais como: serem biocompatíveis, não provocando reações nocivas nos tecidos orais e possuírem resistência ao desgaste e à corrosão, uma vez que estão sujeitos a forças mastigatórias e variações de temperatura e pH. Procura-se assim que estes materiais apresentem durabilidade, estabilidade e resistência à colonização microbiana (51).

A resistência à colonização bacteriana é uma característica imprescindível ao material dentário. Materiais que resistam à colonização por microrganismos ajudam a prevenir a formação de biofilmes de placas bacterianas nas suas superfícies, o que reduzirá significativamente o risco de cáries secundárias ao redor dos dentes pilares, fator que pode comprometer a sua integridade estrutural e a viabilidade da restauração final. A presença dos biofilmes pode levar à inflamação dos tecidos gengivais e com isso ao desenvolvimento de doença periodontal (52). Para além disso, os materiais resistentes à colonização são materiais que apresentam uma maior longevidade das restaurações, maior facilidade de higienização e maior estabilidade estética. Em suma, a resistência microbiana do material dentário contribuirá para a manutenção da saúde oral que, por sua vez, estará associada à saúde geral do paciente (51, 53, 54).

O *S. mutans* é uma bactéria cariogénica predominante no meio oral, conhecida por aderir facilmente às superfícies dentárias e materiais restauradores, iniciando a formação de biofilmes. A sua adesão é influenciada por diversos fatores, desde a rugosidade de superfície do material, à sua composição química, à técnica de confeção e ao acabamento utilizado. Materiais dentários com superfícies rugosas e porosas tendem a favorecer a colonização bacteriana em oposição a superfícies lisas e menos porosas que dificultam a adesão inicial do microrganismo e subsequente formação de um biofilme (54, 55).

Estudos como os de Teughels *et al.* (2006) (56) e Checketts *et al.* (2014) (57) mostraram que materiais com superfícies mais rugosas promovem uma maior adesão bacteriana. A razão pelo qual alguns materiais dentários são mais propensos à adesão bacteriana e à formação de biofilmes passa também pelas diferenças nas características físico-químicas que estes materiais apresentam. No entanto, a rugosidade da superfície e a energia livre da superfície não deixam de ser dois dos fatores mais importantes para a adesão bacteriana (57, 58). Já está bem descrito na literatura, por estudos realizados *in vivo* e *in vitro,* que variáveis na rugosidade de superfície do material interferem com a suscetibilidade à adesão de *S. mutans* (59, 60, 61, 62).

Para além da rugosidade de superfície, Aykent *et al.* (2010) (63) avaliaram quatros técnicas diferentes de acabamento superficial (polimento com instrumento de corte rotativo diamantado, com discos de polimento da Sof-Lex (3M), com pontas de borracha de carboneto de silicone e com disco de feltro). Os autores sugerem que a rugosidade superficial do material dentário influencia significativamente a adesão bacteriana, sendo esta dependente dos tratamentos da superfície do material e da composição química destes. No estudo realizado por Aykent *et al*., o polimento com os disco da Sof-Lex (3M) mostrou apresentar menor adesão bacteriana em comparação com as restantes técnicas estudadas. Na presente investigação foi realizado o polimento manual com discos da Sof-Lex e o mesmo evidenciou menor adesão do *S. mutans*, o que corrobora os autores referidos.

As resinas acrílicas são o material de eleição para restaurações provisórias fixas (51). No entanto, o recente avanço da tecnologia CAD-CAM trouxe consigo o surgimento de novas resinas para esse fim. Apesar da crescente e rápida adoção destes materiais na prática clínica, ainda há uma escassez de estudos de investigação que definam detalhadamente o comportamento biológico dessas resinas,

especialmente no que respeita à adesão do *S. mutans* e da formação de biofilmes. Compreender estes aspetos é importante para a orientação e decisão do clínico na seleção do material restaurador provisório que melhor se adaptará a cada situação clínica (58).

O Médico Dentista deve estar ciente de que a sua escolha não deve residir apenas nas necessidades estéticas e funcionais, mas que também deve atender à prevenção de complicações biológicas durante o período de provisionamento.

4.1. Análise da adesão do *S. mutans* à superfície

Ozel *et al.* (2017) (64) avaliaram a adesão de *S. mutans* e de *C. albicans* a diferentes materiais de coroas provisórias, nomeadamente resinas acrílicas e bis-acrílicas. Neste estudo os autores observaram maior adesão de *S. mutans* no *Structur Premium* (uma resina bis-acrílica) e menor adesão na resina *TemDent* (que pertence ao grupo de resinas de PMMA). Sugerem a explicação pela variação de pesos moleculares e do número de monómeros de metacrilato na matriz orgânica do adesivo. Para além do *TemDent*, os autores avaliaram a adesão microbiana ao T*ab2000* e obtiveram também menor adesão quando comparada com as resinas bis-acrílicas em estudo. A menor adesão *de S. mutans* à superfície de resinas de PMMA em comparação com as resinas bis-acrilícas corrobora os resultados por nós obtidos, onde através das imagens de microscopia eletrónica de varrimento, foi possível verificar que a resina bis-acrílica apresentava maior adesão e até formação de um biofilme organizado.

Para além do referido, os resultados de Ozel *et al* estão também de acordo com os dados obtidos nesta investigação no que diz respeito à quantificação da biomassa do *S. mutans* - superior na resina bis-acrílica em comparação com a resina acrílica *Tab2000*.

Os autores deste estudo avaliaram ainda o perfil de rugosidade de superfície dos diferentes materiais analisados. As imagens obtidas por microscopia de força atómica mostraram picos mais proeminentes e sulcos nas resinas de PMMA, tendo sido o *Tab2000* a resina a apresentar uma rugosidade mais alta. Deste modo, a adesão de *S. mutans* exibiu uma correlação negativa com a rugosidade superficial.

Buergers *et al.* (2007) (65) compararam *in vitro* dez materiais dentários comercialmente diferentes e comumente utilizados na confeção de provisórios fixos,

nomeadamente, duas resinas de PMMA, duas resinas de metacrilatos melhorados e seis resinas bis-acrílicas. Propuseram-se a estudar a suscetibilidade de adesão do *S. mutans* e avaliaram a influência da rugosidade superficial (avaliada por perfilómetro) e a hidrofobicidade (avaliada pela medida do ângulo de contato). Com os resultados, estes autores, não identificaram uma correlação entre a adesão bacteriana e rugosidade superficial ou a hidrofobicidade. Apenas foi possível concluir que as resinas bis-acrilicas e os polimetilmetacrilatos apresentaram potenciais de adesão microbiana significativamente mais baixos do que os metacrilatos melhorados. No estudo de Buergers *et al.* para quantificar a adesão utilizaram corante de oxidação-redução, resazurina, que permite avaliar a viabilidade celular. Aquando desta avaliação quantitativa de adesão não foram encontradas diferenças significativas entre as resinas de PMMA e as resinas bis-acrílicas, o que vai de encontro aos resultados obtidos aquando da quantificação de biomassa na nossa investigação, apesar de o método quantitativo não ter sido o mesmo.

Tendo em conta os resultados obtidos por estes últimos autores, o facto de não ter sido confirmada a correlação entre a adesão, a rugosidade de superfície e a hidrofobicidade, fundamenta-se a ideia de que novos estudos são necessários para compreender melhor o comportamento das resinas existentes no mercado.

Segundo o estudo de Dantas *et al.* (2016) (66), que estudaram a adesão de *Streptococcus sanguinis* ao PMMA, o aumento da rugosidade de superfície está diretamente relacionado com o aumento de adesão bacteriana e que as amostras não polidas apresentam mais adesão em comparação com as amostras polidas. Na presente investigação todos os provetes foram submetidos a um igual polimento, deixando este de ser uma variável que pudesse influenciar os resultados do estudo.

Estudos realizados sobre resinas de fresagem e de impressão 3D, como os de Haralur *et al.* (2018) (67) e Mater *et al.* (2016) (68), mostraram que estes materiais possuem superfícies mais lisas e, por isso, com menor suscetibilidade à colonização bacteriana. Estes resultados vão de encontro com os resultados obtidos nesta investigação, uma vez que ao observarmos as imagens de MEV e compararmos o número de células visualizadas, as novas resinas CAD-CAM (resina C e D), apresentaram menor número de bactérias aderidas à superfície.

Kumari *et al.* (2024) (69) compararam, *in vivo*, a suscetibilidade para a adesão bacteriana de *S. mutans*, *S. pyogenes* e *C. albicans*, a três diferentes materiais utilizados na confeção de restaurações provisórias fixas: uma resina de PMMA

convencional, uma resina de fresagem e uma resina de impressão 3D. Obtiveram resultados que evidenciaram uma maior adesão bacteriana de *S. mutans* nas coroas provisórias de confeção convencional de PMMA. Estes resultados dos autores são congruentes com as imagens por nós obtidas por MEV onde a resina A, face às novas resinas adaptadas ao sistema CAD-CAM estudadas, nomeadamente a resina C e D, mostrou um número superior de células (161 células visualizada na resina A, 2 células na resina C e 71 células visualizadas na resina D).

Parakaw *et al.* (2023) (70) estudaram a biocompatibilidade e a formação de biofilme em quatro materiais dentários utilizados em quatro técnicas de confeção de provisórios fixos, e tal como no nosso, propuseram-se a avaliar uma resina convencional de PMMA, uma resina bis-acrílica, uma resina de fresagem e uma resina de impressão 3D, de marcas comerciais diferentes. Utilizaram provetes circulares com as mesmas dimensões (10mm de diâmetro x 2mm de espessura), no entanto com polimento diferente (as amostras foram polidas com papel carbeto de silício de grão 600). A principal diferença do estudo de Parakaw *et al.* para o presente estudo reside no microrganismo utilizado. Os autores utilizaram *Porphyromonas gingivalis*. Como conclusões do estudo, os autores mostraram que os quatro grupos de resinas estudadas, das quatro técnicas de confeção, a resina de fresagem pelo método CAD-CAM foi a que menor adesão microbiana apresentou. Embora o microrganismo estudado não tenha sido o mesmo, este resultado é concordante com o observado por nós, uma vez que a resina C foi a que demonstrou uma menor adesão de *S. mutans*.

Tasin *et al.* (2023) (71) desenvolveram um estudo muito semelhante ao estudo anterior, onde avaliaram a adesão do S. *mutans* e da C. *albicans* à superfície de quatro tipos de materiais dentários: uma resina de PMMA convencional, uma resina bis-acrílica, uma resina de fresagem e uma resina de impressão 3D. Foram desenvolvidos os provetes com o mesmo desenho circular e as mesmas dimensões (10mmx2mm). Neste estudo os investigadores avaliaram a rugosidade de superfície e a hidrofobicidade por valores do ângulo de contacto. Observaram através de MEV, maior quantidade de microrganismos aderidos na resina bis-acrílica, e menor na resina de fresagem do sistema CAD-CAM, o que também vai ao encontro dos resultados desta investigação.

4.2. Análise crítica e limitações da investigação desenvolvida

Este estudo experimental foi desenvolvido no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, sendo o período disponibilizado e a logística envolvida fatores limitativos para a dimensão da temática em questão. No entanto, trata-se de uma investigação laboratorial que propôs o estudo de quatro tipos de resinas diferentes, permitindo avaliar o comportamento biológico de novos materiais resinosos introduzidos no mercado e desenvolvidos para serem utilizados na tecnologia CAD-CAM.

Esta investigação contou com a envolvência das plataformas SalivaTec e *Precision Dental Medicine* na execução do protocolo laboratorial. Apenas e só os provetes sem irregularidades foram utilizados no estudo e as normas recomendadas pelo fabricante foram criteriosamente respeitadas.

Trata-se de uma investigação sobre um tema bastante atual e com elevado potencial de publicação de carácter científico.

Porém, podem ser apontadas algumas limitações à presente investigação laboratorial, uma das quais está relacionada com o facto de apenas terem sido testadas quatro marcas comerciais de resinas, preconizando-se estudos com um leque mais alargado de resinas.

Os dados MEV devem ser interpretados cautelosamente uma vez que não permitem qualquer diferenciação entre bactérias viáveis e não viáveis e apenas reproduzem uma secção representativa de uma amostra completa.

De modo a serem mimetizadas as condições intraorais, como a adesão bacteriana às superfícies da cavidade oral submetidas à lavagem salivar, a formação de película por proteínas salivares e o efeito de co-adesão de fungos, alguns estudos anteriores *in vitro* fizeram o pré-revestimento das resinas com saliva (72).

Neste estudo, estas técnicas não foram utilizadas dada a intenção de avaliar somente os efeitos do tipo de processamento das resinas de provisórios de prótese fixa na adesão microbiana. Todavia, em estudos futuros, a adição de uma destas técnicas seria uma mais-valia para aproximar os resultados do estudo ao que na realidade os materiais quando colocados em cavidade oral estão sujeitos.

A mimetização das características inerentes à complexidade da cavidade oral, nomeadamente a presença de saliva e do fluido crevicular, foi desconsiderada nesta investigação. Assim como as alterações inerentes aos materiais dentários após longos

períodos sujeitos às condições do meio oral. Estudos futuros com resinas sujeitas a ciclos de termociclagem para simular a biodegradação a que estes materiais estão sujeitos na cavidade oral também são importantes (72, 73).

No que diz respeito aos provetes utilizados, a forma circular dos mesmos não se assemelha à forma das coroas provisórias, podendo distanciar os resultados da realidade devido à diferença de espessura e forma do provete em comparação com as restaurações provisórias. Em suma, os provetes utilizados na investigação apresentam superfícies planas em contrário às superfícies curvas das restaurações.

O polimento aos provetes foi realizado apenas numa das faces do provete, devidamente identificada. No entanto, aquando da incubação com a suspensão de *S. mutans*, as áreas lateral e inferior do provete, que não foram polidas, também se encontravam livres para a adesão microbiana. Este aspeto pode justificar os resultados obtidos na quantificação da biomassa aderida, onde não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as quatro resinas. A não realização do polimento na face lateral é explicada pela dificuldade de realizar o polimento nesta pequena área e por este procedimento alterar a configuração inicial do provete, tornando-os disformes.

Uma outra limitação deste estudo i*n vitro* é o facto de apenas ter sido estudado um único tipo de bactéria e as condições não refletirem totalmente a variedade da flora microbiana oral. O facto de ser um estudo *in vitro* limitou o processo do mecanismo de adesão microbiana, a formação do biofilme é afetada pela presença de outros microrganismos no ambiente dinâmico da cavidade oral.

4.3. Trabalhos de investigação futuros

Tendo em conta as limitações do estudo laboratorial acima referidas, devem ser desenvolvidos novos estudos que as ultrapassem.

A crescente evolução da tecnologia CAD-CAM e a sua rápida aplicabilidade na prática clínica de Medicina Dentária representa um avanço significativo que acarreta consigo precisão, rapidez e qualidade aprimorada aos tratamentos médico dentários. No entanto, a integração de novas resinas adaptadas ao sistema CAD-CAM para restaurações provisórias requer mais estudos e pesquisas contínuas para preencher a lacuna da falta de informação quanto ao comportamento biológico e mecânico destas novas resinas. É crucial comparar as novas resinas com os materiais

tradicionais para identificar vantagens e desvantagens específicas por forma a ajudar os clínicos a fazerem escolhas informadas sobre o material dentário mais adequado para diferentes situações clínicas. Como qualquer nova tecnologia, requerem de um período de adaptação e testes extensivos que confirmem a sua eficácia e segurança a longo prazo.

Estudos têm demonstrado a existência de uma interação simbiótica e da formação de biofilmes sinergéticos do *S. mutans* com a *C. albicans*. Esta evidência faz com que seja importante realizar um estudo da adesão e formação do biofilme com estas duas espécies juntas (41, 42). No mesmo sentido seria pertinente a realização de estudos *in vivo* para avaliar efetivamente o comportamento destes materiais em contexto que reflita a dinâmica da cavidade oral.

Outro aspeto que seria importante avaliar é a associação dos resultados obtidos da adesão microbiana com o tipo de polimento e com a rugosidade de superfície das diferentes resinas estudadas.

5. CONCLUSÕES

Não obstante das limitações associadas a esta investigação experimental, de acordo com os materiais e métodos adotados, é possível retirar as seguintes conclusões:

1. Quando sujeitas ao mesmo polimento, os estudos de adesão do *S. mutans* à superfície mostraram que as resinas convencionais são mais suscetíveis à adesão deste microrganismo quando comparadas com as novas resinas adaptadas ao sistema CAD-CAM.

2. A resina bis-acrílica utilizada neste estudo foi a que apresentou claramente uma estrutura tridimensional típica de biofilme, onde foi possível observar uma matriz extracelular que encapsula as células, o que permite concluir que se trata da resina com maior potencial de adesão desta bactéria.

3. A resina de fresagem estudada foi a que apresentou menor adesão microbiana seguida da resina de impressão 3D.

4. Os resultados obtidos da quantificação da biomassa mostraram existir uma tendência para maior adesão microbiana nas resinas de impressão 3D e bis-acrílica. No entanto, a quantidade de biomassa aderida foi semelhante nas 4 resinas avaliadas, não havendo, entre elas, diferenças estatisticamente significativas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Layton DM (Ed.), Morgano SM, Muller F, *et al*. Glossary of Prosthodontic Terms 2023, 10th edition. J Prosthet Dent 2023; 130(4S1): e1-e126. PII: S0022-3913(23)X0002-X.

2. Shilingburg HT, Hobo S, Whitsett LD, Jacobi R, Brackett S. Fundamentos de Prótese Fixa. 4. ed. Quintessence editora ltda. 2007. p. 183-206.

3. Dickie J. Fixed prosthodontics: principles and clinics. BDJ. 2012; 212(8):398.

4. Pecoraro LF, Valle AI, Bonfante CR, Bonachela PC. Prótese fixa. 1st ed. São Paulo Artes Médicas. 1998. p. 111-48.

5. Deligeorgi V, Mjör IA, Wilson NH. An overview of reasons for the placement and replacement of restorations. Prim Dent Care. 2001;8(1):5-11.

6. Givens EJ, Neiva G, Yaman P, Dennison JB. Marginal Adaptation and Color stability of Four Provisional Materials. J Prosthodont. 2008;17(2):97-101.

7. Wiskott HWA. Fixed Prosthodontics: Principles and Clinics. 1. ed. Quintessence Publishing; 2011. p. 529-56.

8. Burke FJ,, Murray MC, Shortall AC. Trends in indirect dentistry: 6. Provisional restorations, more than just a temporary. Dent update. 2005; 32(8):443-4, 450-522.

9. Perry RD, Magnuson B. Provisional materials: key components of interim fixed restorations. Compend Contin Educ Dent. 2012;33(1):59-60, 62.

10. Jambur H, Nadiger V, Nadiger G. Application of polymers in denture and its developments. IOSR Journal. 2016;3:43-8.

11. Nejatian T, Nathwani N, Taylor L, Sefat F. Denture Base Composites: Effect of Surface Modified Nano- and Micro-Particulates on Mechanical Properties of Polymethyl Methacrylate. Materials (Basel). 2020;13(2):307.

12. Gautam R, Singh RD, Sharma VP, Siddhartha R, Chand P, Kumar R. Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2012;100(5):1444-50.

13. Bourlidi S, Qureshi J, Soo S, Petridis H. Effect of different initial finishes and Parylene coating thickness on the surface properties of coated PMMA. J Prosthet Dent. 2016;115(3):363-70.

14. Bayraktar G, Guvener B, Bural C, Uresin Y. Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2006;76(2):340-5.

15. Zafar MS. Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. Polymers (Basel). 2020;12(10):2299.

16. Tom T, Uthappa M, Sunny K, Begum F, Nautiyal M, Tamore S. Provisional restorations: An overview of materials used. Journal of Advanced Clinical & Research Insights. 2016;3(6):212-4.

17. Alla RK, Swamy KN, Vyas R, Konakanchi A. Conventional and Contemporary polymers for the fabrication of denture prosthesis: part I – Overview, composition and properties. International Journal of Applied Dental Sciences. 2015;1(4):82-9.

18. Schwantz JK, Oliveira-Ogliari A, Meereis CT, Leal FB, Ogliari FA, Moraes RR. Characterization of Bis-Acryl Composite Resins for Provisional Restorations. Braz Dent J. 2017;28(3):354-61.

19. Miyazaki T, Hotta Y, Kunii J, Kuriyama S, Tamaki Y. A review of dental CAD/CAM: current status and future perspectives from 20 years of experience. Dent Mater J. 2009;28(1):44-56.

20. Davidowitz G, Kotick PG. The use of CAD/CAM in dentistry. Dent Clin North Am. 2011;55(3):559-70.

21. Logozzo S, Zanetti EM, Franceschini G, Kilpela A, Makynen A. Recent advances in dental optics – Part I: 3D intraoral scanners for restorative dentistry. Opt Lasers Eng. 2014;54:203-21.

22. Prince JD. 3D Printing: An Industrial Revolution. Journal of Electronic Resources in Medical Libraries. 2014;11(1):39-45.

23. Baba NZ, AlRumaih HS, Goodacre BJ, Goodacre CJ. Current techniques in CAD/CAM denture fabrication. Gen Dent. 2016;64(6):23-8.

24. Mörmann WH. The origin of the Cerec method: a personal review of the first 5 years. Int J Comput Dent. 2004;7(1):11-24.

25. Savini A, Savini GG. A short history of 3D printing, a technological revolution just started2. ICOHTEC/IEEE. 2015;73(14):1-8.

26. Van Noort R. The future of dental devices is digital. Dent Mater. 2012;28(1):3–12.

27. Tapie L, Lebon N, Mawussi B, Fron Chabouis H, Duret F, Attal J-P. Understanding dental CAD/CAM for restorations--the digital workflow from a mechanical engineering viewpoint. Int J Comput Dent. 2015;18(1):21–44.

28. Camargo I, Manetti L, Zeczkowski M, Sundfeld D, Pini N, Mori A, et al. Sistemas CAD/CAM e suas aplicações na odontologia: revisão da literatura. Revista Uningá. 2018;55:221-8.

29. Kessler A, Hickel R, Reymus M. 3D Printing in Dentistry-State of the Art. Oper Dent. 2020;45(1):30-40.

30. Skorulska A, Piszko P, Rybak Z, Szymonowicz M, Dobrzyński M. Review on Polymer, Ceramic and Composite Materials for CAD/CAM Indirect Restorations in Dentistry-Application, Mechanical Characteristics and Comparison. Materials (Basel). 2021;14(7):1592.

31. Borrello J, Nasser P, Iatridis JC, Costa KD. 3D printing a mechanically-tunable acrylate resin on a commercial DLP-SLA printer. Additive Manufacturing. 2018;23:374-80.

32. Garcia J, Yang Z, Mongrain R, Leask RL, Lachapelle K. 3D printing materials and their use in medical education: a review of current technology and trends for the future. BMJ Simul Technol Enhanc Learn. 2018;4(1):27-40.

33. Chen SG, Yang J, Jia YG, Lu B, Ren L. TiO(2) and PEEK Reinforced 3D Printing PMMA Composite Resin for Dental Denture Base Applications. Nanomaterials (Basel). 2019;9(7).

34. Yilmaz B, Al Rashid A, Ait Mou Y, Evis Z, Koç M. Bioprinting: A review of processes, materials and applications. Bioprinting. 2021;23:e00148.

35. Berg G, Rybakova D, Fischer D, *et al*. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. Microbiome. 2020;8(1):103.

36. Berger D, Rakhamimova A, Pollack A, Loewy Z. Oral Biofilms: Development, Control, and Analysis. High-Throughput. 2018;7(3):24.

37. Kumar PS. Oral microbiota and systemic disease. Anaerobe. 2013;24:90-3.

38. Delaviz Y, Finer Y, Santerre JP. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: a rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. Dent Mater. 2014;30(1):16-32.

39. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans. Microbiol Rev. 1980;44(2):331-84.

40. Kuramitsu HK. Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. Crit Rev Oral Biol Med. 1993;4(2):159-76.

41. Mattos-Graner RO, Smith DJ, King WF, Mayer MP. Water-insoluble glucan synthesis by mutans streptococcal strains correlates with caries incidence in 12- to 30-month-old children. J Dent Res. 2000;79(6):1371-7.

42. Martorano-Fernandes L, Goodwine JS, Ricomini-Filho AP, Nobile CJ, Del Bel Cury AA. Candida albicans Adhesins Als1 and Hwp1 Modulate Interactions with Streptococcus mutans. Microorganisms. 2023;11(6):1391.

43. Gregoire S, Xiao J, Silva BB, *et al*. Role of glucosyltransferase B in interactions of Candida albicans with Streptococcus mutans and with an experimental pellicle on hydroxyapatite surfaces. Appl. Environ. Microbiol. 2011;77: 6357–67.

44. Sardin S, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O. In vitro streptococcal adherence on prosthetic and implant materials. Interactions with physicochemical surface properties. J Oral Rehabil. 2004;31(2):140-8.

45. Terada A, Yuasa A, Kushimoto T, Tsuneda S, Katakai A, Tamada M. Bacterial adhesion to and viability on positively charged polymer surfaces. Microbiology (Reading). 2006;152(Pt 12):3575-83.

46. Alves PV, Lima Filho RM, Telles E, Bolognese A. Surface roughness of acrylic resins after different curing and polishing techniques. Angle Orthod. 2007;77(3):528-3

47. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by Streptococcus oralis in a constant depth film fermentor. J Appl Microbiol. 2001;91(1):47-53.

48. Kocaagaoglu H, Aslan T, Gürbulak A, Albayrak H, Taşdemir Z, Gumus H. Efficacy of polishing kits on the surface roughness and color stability of different composite resins. Niger J Clin Pract. 2017;20(5):557-65.

49. Niu Y, Zhang C, Sun Y, Dong L, Si Y, Yang J, Zhu P, Yang F. Symbiotic relationship between Prevotella denticola and Streptococcus mutans enhances virulence of plaque biofilms. Arch Oral Biol. 2023;151:105714.

50. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Phillips' Science of Dental Materials. 12th Edition. St. Louis: Elsevier Saunders. 2012:474-90.

51. Rosenstiel SF, Land MF, Fujimoto J. Contemporary Fixed Prosthodontics, 5th Edition. St. Louis, Missouri. 2016:401-50.

52. Tassi RJ, Menoncin BL. Microbial adhesion and biofilm formation on provisional restorative materials: An in vitro study. Braz Oral Res. 2020;34:e1-017.

53. Gordan VV Garvan CW. Adhesion of Streptococcus mutans to provisional resin materials. Oper Dent. 2009:34(1),72-9.

54. Inoue K Yuasa T. Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to acrylic resin: A study using atomic force microscopy. J Prosthet Dent. 2004: 91(5), 451-457.

55. Choi YR, Kwon JS. Antimicrobial activities of CAD/CAM resins containing various agents against Streptococcus mutans. Materials. 2017;10(6):645.

56. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. Clin Oral Implants Res. 2006;17(S2):68-81.

57. Checketts MR, Turkyilmaz I, Asar NV. An investigation of the effect of scaling-induced surface roughness on bacterial adhesion in common fixed dental restorative materials. J Prosthet Dent. 2014;112(5):1265-70.

58. Sardin S, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O. In vitro streptococcal adherence on prosthetic and implant materials. Interactions with physicochemical surface properties. J Oral Rehabil 2004;31:140-8.

59. Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. J Clin Periodontol 1995;22:1-14.

60. Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of Streptococcus mutans to vari- ous restorative materials in a continuous flow system. J Oral Rehabil. 2004;31:278- 85.

61. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by Streptococcus oralis in a constant depth film fermentor. J Appl Microbiol. 2001;91:47-53.

62. Taylor RL, Verran J, Lees GC, Ward AJ. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. J Mater Sci Mater Med. 1998;9:17-22.

63. Aykent F, Yondem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S. Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. J Prosthet Dent. 2010;103(4):221-7.

64. Ozel GS, Guneser MB, Inan O, Eldeniz AU. Evaluation of C. Albicans and S. Mutans adherence on different provisional crown materials. J Adv Prosthodont. 2017;9(5):335-40.

65. Buergers R, Rosentritt M, Handel G. Bacterial adhesion of Streptococcus mutans to provisional fixed prosthodontic material. J Prosthet Dent. 2007;98(6):461-9.

66. Dantas LC, da Silva-Neto JP, Dantas TS, Naves LZ, das Neves FD, da Mota AS. Bacterial Adhesion and Surface Roughness for Different Clinical Techniques for Acrylic Polymethyl Methacrylate. Int J Dent. 2016;8685796.

67. Haralur SB, Al-Qahtani AS, Al-Qarni MM, Al-Hamdan RS. Effect of conventional and CAD-CAM fabricated denture base and tooth materials on adhesion of Candida albicans: An in vitro study. J Prosthodont Res. 2018;62(4):500-7.

68. Mater CP, Kang S, Finkelman MD, Papathanasiou AG. Surface roughness of CAD/CAM and manually fabricated interim materials following polishing and glazing. J Esthet Restor Dent. 2016;28(2): 74-85.

69. Kumari MK, Mohapatra A, Rath S, Choudhury GK, Garhnayak M, Mohapatra A. A Comparative Analysis of Bacterial Adhesion on Different Long-Term Provisional Fixed Prostheses Fabricated by CAD/CAM Milling, 3D Printing, and Heat Cure Technique: An In Vivo Study. J Pharm Bioallied Sci. 2024;16(Suppl 1):S918-S920.

70. Parakaw T, Ruangsawasdi N, Dararat P, Phruksaniyom C, Srihirun S, Petchmedyai P. Biocompatibility and biofilm formation on conventional and CAD/CAM provisional implant restorations. BMC Oral Health. 2023;23(1):718.

71. Taşın S, Güvenir M, Ismatullaev A. Effects of Surface Characteristics of Conventionally Manufactured, CAD/CAM Milled, and 3D-Printed Interim Materials on Adherence of Streptococcus Mutans and Candida Albicans. Cumhuriyet Dent J 26. 2023;3:227–234.

72. Park JW, Song CW, Jung JH, Ahn SJ, Ferracane JL. The effects of surface roughness of composite resin on biofilm formation of Streptococcus mutans in the presence of saliva. Oper Dent. 2012;37(5):532-9.

73. Odds FC. Candida and Candidosis. 2nd ed. London; Bailliere Tindalll; 1988. p. 42-59.

Membros do Júri das Provas Públicas

Presidente: Professor Doutor Nuno Rosa, Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

Arguente: Professor Doutor André Correia, Professor Associado da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

Orientador: Professora Doutora Helena Salgado, Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

Data das provas públicas: 2024/07/24

Validação e confirmação pelos serviços escolares:

_____

___ / ___ / ___