

UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

STEPHANIE FRANCOI POOLE

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MATERIAIS CERÂMICOS E TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIES EM RELAÇÃO À ADESÃO DE BIOFILMES DE *STREPTOCOCCUS*
MUTANS E *PREVOTELLA INTERMEDIA*

RIBEIRÃO PRETO
2020

Stephanie Francoi Poole

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MATERIAIS CERÂMICOS E TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIES EM RELAÇÃO À ADESÃO DE BIOFILMES *STREPTOCOCCUS*
MUTANS E *PREVOTELLA INTERMEDIA*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, como parte
dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odon-
tologia, área de concentração Implantodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Érica Alves Gomes

Ribeirão Preto
2020

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento Técnico
da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto –

P822i Poole, Stephanie Francoi, 1993 -
Influência de diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de
superfícies em relação à adesão de biofilmes de *Streptococcus*
mutans e *Prevotella intermedia* / Stephanie Francoi Poole. - -
Ribeirão Preto, 2019.
61 f.: il. color.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Érica Alves Gomes.

Monografia (pós-graduação) - Universidade de Ribeirão Preto,
UNAERP, Odontologia, área de concentração: Implantodontia.
Ribeirão Preto, 2019.

1. Cerâmica. 2. CAD-CAM. 3. Biofilme dentário. I. Título.
CDD 617.692

STEPHANIE FRANCOI POOLE
“Influência de diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfícies em relação à adesão de Biofilmes de Streptococcus Mutans e Prevotella Intermedia”.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia Universidade de Ribeirão Preto para obtenção de título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Profa. Dra. Érica Alves Gomes

Área de concentração: Implantodontia

Data de defesa: 28 de janeiro de 2020

Resultado: Aprovada

BANCA EXAMINADORA



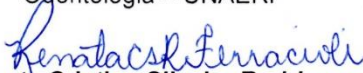
Profa. Dra. Érica Alves Gomes

Professora Assistente Doutora da Universidade de Ribeirão Preto - Curso de Odontologia - UNAERP - Presidente



Profa. Dra. Larissa Moreira Spinola de Castro Raucci

- Professora Assistente Doutora da Universidade de Ribeirão Preto - Curso de Odontologia - UNAERP



Profa. Dra. Renata Cristina Silveira Rodrigues Ferracioli

Professora Doutora da Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP -USP)

Com o coração cheio de gratidão, eu dedico esse trabalho primeiramente a **Deus**, por sempre estar presente na minha vida, me sustentando e capacitando a alcançar meus sonhos. Ele é meu refúgio e minha força, Sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus queridos pais, **John e Renata Poole**, que contribuíram para que essa conquista pudesse ser obtida com sucesso. Obrigada por serem os melhores pais que eu poderia ter, vocês são minha inspiração e meus maiores incentivadores.

Aos meus amáveis avós, **Bobby e Geneva Poole** (*in memoriam*), **Lincoln e Amabile Francoi**, que contribuíram para o que sou hoje.

Aos meus irmãos e cunhados, **Andrew e Karen Poole, Melissa e Rodrigo Fornari**, que sempre estiveram presentes nos momentos importantes da minha vida.

Aos meus adoráveis sobrinhos, **Luísa Poole, Beatriz e Pedro Fornari**, que enchem minha vida de alegria e diversão. Fazem tudo ficar mais leve.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha orientadora, **Profa. Dra. Érica Alves Gomes**, que brotou em mim o encanto pela pesquisa e sempre me incentivou na carreira acadêmica. Obrigada pela orientação, dedicação e ensinamentos transmitidos. E por todo carinho, atenção e paciência que prestou a mim durante essa jornada. Agradeço pelas oportunidades que me proporcionou, pois aprendi muito ao teu lado.

Ao **Prof. Dr. André Pitondo da Silva**, pela parceria, suporte, profissionalismo e disponibilidade em fornecer o laboratório para execução da parte experimental.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Ribeirão Preto, na pessoa da Magnífica Reitora **Profa. Elmara Lúcia de Oliveira Bonini**, pela oportunidade e pelos conhecimentos adquiridos.

À Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, **Profa. Dra. Yara Teresinha Corrêa Silva Sousa**, pelo incentivo e atenção durante o programa *stricto-sensu*.

Ao corpo docente do curso do Programa de Pós-graduação da Universidade de Ribeirão Preto: **Prof. Dr. André Pitondo da Silva, Profa. Dra. Andrea Marcaccini, Prof. Dr. Carlos Miranda, Prof. Dr. Celso Bernardo de Sousa Filho, Prof. Dr. Edílson Carlos Caritá, Prof. Dr. Edson Alfredo, Profa. Dra. Danielle Cristine Furtado Messias, Profa. Dra. Érica Alves Gomes, Prof. Dr. Fuad Jacob Abi Rached Junior, Profa. Dra. Graziela Bianchi Leoni, Profa. Dra. Izabela Cristina Mauricio Moris, Profa. Dra. Larissa M. S. C. Raucci, Prof. Dr. Paulo Esteves Pinto Faria, Prof. Dr. Silvio Rocha Corrêa da Silva, Prof. Dr. Walter Raucci Neto e Profa. Dra. Yara T. Corrêa Silva Sousa**, pelos ensinamentos transmitidos.

Agradeço a **Dra. Grasielle E. Crippa Perez** por toda ajuda, incentivo e dedicação que sempre demonstrou a mim. E sou grata por toda oportunidade que me ofereceu de exercer a profissão ao teu lado.

Aos meus **amigos e familiares**, vocês fazem parte da minha história e cada um contribuiu de uma forma especial nessa conquista. Amo cada um de vocês!

Aos meus colegas de Pós-Graduação pela boa convivência que tivemos durante o curso. Em especial aos meus amigos queridos **Fernanda Mara Saltareli e Antônio Secco Martorano**, obrigada pelo companheirismo e cumplicidade de anos, cuja amizade fez os dias difíceis se tornarem mais leves e felizes.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo incentivo financeiro na concessão da bolsa de Mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pelo auxílio regular à pesquisa, Processo FAPESP nº 2016/25311-7.

Ao Laboratório de Bacteriologia e Biologia Molecular da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), em especial à doutoranda **Mariana Oliveira**, pela paciência em ensinar, pela ajuda e colaboração na execução deste trabalho.

Ao Laboratório de Estudos Biomecânicos em Prótese e Implantes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP), em especial ao **Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro**, pela seriedade, profissionalismo e disponibilidade ao me receber, à especialista de laboratório **Dra. Adriana Cláudia Lapria Faria**, pelo auxílio e suporte técnico.

Ao Laboratório Heitor Panzeri da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP), em especial à **Profa. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza**, pela disponibilidade do laboratório, e à técnica especialista **Rafaela Tonani Torrieri**, pelo auxílio técnico.

Ao Laboratório Microscópio Confocal a Laser da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, em especial à **Profa. Dra. Regina Guenka Palma-Dibb** e à especialista de laboratório **Dra. Juliana Jendiroba Faraoni**, pelo auxílio técnico na avaliação morfológica de superfície durante a utilização do Microscópio Confocal a Laser (Processo FAPESP 2011/12901-7).

Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), em especial ao técnico especialista **José Augusto Maulim**, pelo auxílio técnico na microscopia eletrônica de varredura.

Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia Confocal (LMMC) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), em especial à técnica especialista **Elizabete Rosa Milani**, pela atenção e assistência prestada na microscopia confocal.

“Deus trabalha em nossas vidas de maneira surpreendente,
age de forma extraordinária, usa quem menos imaginávamos
e nos faz entender que é Ele que nos guarda, nos cuida,
nos livra e também nos honra.”
(Cecília Sfalsin)

RESUMO

Diante da diversidade de materiais cerâmicos empregados nas reabilitações protéticas e diferentes protocolos para acabamento das restaurações, verifica-se que a literatura não está clara em relação a estes quesitos sob o ponto de vista microbiológico. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência de diferentes tratamentos de superfície em materiais cerâmicos na rugosidade de superfície e adesão de biofilmes bacterianos. Blocos de quatro sistemas cerâmicos CAD-CAM (cerâmica feldspática - GL, dissilicato de lítio - GD, silicato de lítio reforçado com óxido de zircônio - GS, zircônia monolítica - GZ) foram seccionados com dimensões de 7 mm altura × 6 mm de largura × 2 mm de espessura. Obteve-se 168 corpos de prova, os quais foram distribuídos e submetidos a três tratamentos de superfície: controle, acabamento com pontas diamantadas e glazeamento (n = 7). Rugosidade de superfície foi avaliada em microscópio confocal de varredura a laser (Sa) e, qualitativamente, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Posteriormente, os grupos foram contaminados com duas linhagens bacterianas: *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e *Prevotella intermedia* ATCC 25611. O biofilme foi quantificado pela contagem das unidades formadoras de colônia (UFCs). MEV e microscopia confocal de fluorescência (MCF) foram utilizadas para analisar a morfologia e formação do biofilme. Os dados foram avaliados por ANOVA a 2 fatores e teste complementar de Tukey, com nível de significância de 5%. Os resultados quantitativos (Sa) e qualitativos (MEV) mostraram que o acabamento com pontas diamantadas gerou maior rugosidade de superfície ($p < 0,05$) e, quando levado em consideração o material, maior rugosidade de superfície foi verificado para o GZ em relação aos demais materiais ($p < 0,05$). Para a *P. intermedia* verificou-se diferença nas UFCs entre os materiais ($p < 0,05$), evidenciando maior quantidade de adesão bacteriana para os grupos leucita e zircônia ($p > 0,05$). Já para o *S. mutans* não foi verificado diferença estatisticamente significativa do material e tratamento de superfície em relação à contagem de UFCs ($p > 0,05$). Assim, sugere-se que a rugosidade de superfície do material cerâmico favorece a susceptibilidade de adesão bacteriana, portanto, o acabamento com pontas diamantadas deve ser evitado nas superfícies dos materiais cerâmicos, pois pode haver predominância de contaminação pela *P. intermedia*.

Palavras-chave: Cerâmica. CAD-CAM. Biofilme dentário.

ABSTRACT

In view of the diversity of ceramic materials used in prosthetic rehabilitation and different protocols for finishing restorations, it appears that the literature is not clear regarding these questions from a microbiological point of view. Thus, the aim of this study was to evaluate the influence of different surface finish treatments on ceramic materials on the surface roughness and adhesion of bacterial biofilms. Blocks of four ceramic CAD-CAM systems (GL: leucite, GD: lithium disilicate, GS: lithium silicate reinforced with zirconium oxide, and GZM: monolithic zirconia) were sectioned with dimensions of 7 mm high \times 6 mm wide \times 2 mm thick. Surface roughness was evaluated using a confocal laser microscopy (Sa) and, qualitatively, using scanning electron microscopy (SEM). Then, the groups were contaminated with two bacterial strains: *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *Prevotella intermedia* ATCC 25611. Biofilm was quantified by counting colony-forming units (CFUs). SEM and fluorescent confocal microscopy (MCF) were used to analyze the morphology and biofilm formation. The data were evaluated by two-way ANOVA and Tukey's complementary test, with a significance level of 5%. The quantitative (Sa) and qualitative (SEM) results showed that the finishing with diamond tips generated greater surface roughness ($p < 0,05$), and when considering the material, greater surface roughness was verified for GZ in relation to the other materials ($p < 0.05$). For *P. intermedia*, there was a difference in the CFU between the materials ($p < 0.05$), showing a greater amount of bacterial adhesion for the leucite and zirconia groups. ($p > 0,05$). As for *S. mutans*, there was no statistically significant difference in the material and surface treatment in relation to the CFU count ($p > 0.05$). Thus, it is suggested that the surface roughness of the ceramic material favors the susceptibility of bacterial adhesion, therefore, finishing with diamond tips should be avoided on the surfaces of the ceramic materials, as there may be a predominance of contamination by *P. intermedia*.

Key-words: Ceramics. CAD-CAM. Dental plaque.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 PROPOSIÇÃO	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	21
3.2 OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	23
3.3 TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIES	26
3.3.1 Auto-glaze ou controle (AG)	26
3.3.2 Glazeamento (G)	26
3.3.3 Acabamento (P)	27
3.4 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE	29
3.5 ESTERIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	30
3.6 AVALIAÇÃO DA ADESÃO BACTERIANA	31
3.6.1 Determinação de unidades formadoras de colônias (UFC)	31
3.7 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIE	32
3.9 MICROSCOPIA CONFOCAL DE FLUORESCÊNCIA	33
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
4 RESULTADOS	34
4.1 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE EM MICROSCOPIA CONFOCAL A LASER	34
4.2 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE POR MEIO DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	35
4.3 <i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	37
4.3.1 Avaliação da adesão de biofilme por contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs)	37
4.3.2 Avaliação da morfologia de superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura	39
4.3.3 Avaliação da adesão bacteriana por meio de microscopia confocal de fluorescência	41
4.4 <i>PREVOTELLA INTERMEDIA</i>	43
4.4.1 Avaliação da adesão de biofilme por contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs)	43

4.4.2 Avaliação da morfologia de superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura	45
4.4.3 Avaliação da adesão bacteriana por meio de microscopia confocal de fluorescência	47
5 DISCUSSÃO	49
6 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

Com a evolução dos materiais cerâmicos e avanço da tecnologia CAD/CAM (*Computer Aided Design/Computer Aided Manufacturing*), possibilidades surgiram como opções de tratamento para reabilitação oral sobre dentes ou implantes dentários (da SILVA et al., 2017). Os materiais cerâmicos permitem alcançar resultados estéticos e biomecânicos satisfatórios, garantindo maior semelhança ao dente natural (SAILER et al., 2007; GUESS et al., 2011), devido à adequadas propriedades, como estabilidade cromática, biocompatibilidade, baixa retenção de placas, elevada dureza, resistência ao desgaste, baixa condutividade térmica e inércia química (ZARONE et al., 2011).

Com finalidade de desenvolver materiais cada vez mais estéticos, as restaurações cerâmicas livres de metal foram introduzidas no mercado, as quais têm sido rotineiramente utilizadas na prática odontológica; visto que, os materiais metálicos, embora apresente função biomecânica favorável, não contemplam as exigências estéticas desejadas (STUDART et al., 2007).

As cerâmicas odontológicas contêm em sua composição elementos metálicos (alumínio, cálcio, lítio, magnésio, potássio, sódio, lantânio, estanho, titânio e zircônio) e não metálicos (silício, boro, flúor e oxigênio) e são caracterizadas por duas fases: uma fase cristalina, relacionada às propriedades mecânicas, circundada por uma fase vítrea, responsável pelas características ópticas, viscosidade e expansão térmica do material (DELLA BONA et al., 2004).

Diversos sistemas cerâmicos têm sido desenvolvidos com objetivo de melhorar as propriedades mecânicas, estéticas e biocompatibilidade para, conseqüentemente, promover um aumento na durabilidade da restauração e não comprometer o seu desempenho clínico (DENRY et al., 2010; GUESS et al., 2011). A cerâmica vítrea reforçada por cristais de leucita (35-55%) é composta de $K_2O-Al_2O_3-SiO_2$ com importantes aditivos que influenciam tanto a nucleação quanto a cristalização. A leucita possui boa translucidez, propriedades ópticas satisfatórias, sendo indicadas para *inlays*, *onlays* e coroas anteriores (RITZBERGER et al., 2010).

Um dos materiais mais difundidos e utilizados na reabilitação oral é a cerâmica de dissilicato de lítio que apresenta alta translucência e aparência estética satisfatória (RAPTIS et al., 2006), que é definida como uma cerâmica vítrea que, antes de sua conversão térmica, apresenta-se como um material vítreo amorfo que, após o seu tratamento térmico, atinge um material cristalino com aproximadamente 70% de dissilicato de lítio em uma fase cristalina ortorrômbica ($Li_2Si_2O_5$), o que lhe garante excelentes propriedades mecânicas e de biocompatibilidade (MA et al., 2013). São indicadas para *inlays*, *onlays* e coroas unitárias (VO

et al., 2015). Entretanto, sua indicação para a região dos dentes posteriores deve ser criteriosamente avaliada, uma vez que falhas durante a sua utilização foram relatadas (PIEGER et al., 2014).

Material à base de silicato de lítio reforçado com dióxido de zircônio, composto por lítio-metassilicato (Li_2SiO_3) de cerâmica de vidro, reforçado com aproximadamente 10% de dióxido de zircônio (ZrO_2), que após o processo de cristalização final, leva à formação de microestrutura de grãos finos ($\text{Li}_2\text{O-ZrO}_2\text{-SiO}_2$) e homogêneo, tem sido indicado para restaurações estéticas. Acredita-se que as partículas de zircônia incorporadas na cerâmica garantem reforço da estrutura do material, sendo que, após sua cristalização apresenta melhores propriedades mecânicas e características estéticas adequadas (VITA SUPRINITY, Technical and scientific documentation, 2014).

Outro tipo de material cerâmico disponibilizado no mercado são as cerâmicas à base de zircônia parcialmente estabilizadas por ítria (Y-TZP) que tem finalidade de garantir adequado suporte para as restaurações livres de metal apresentando desempenho adequado para uso clínico (POOLE et al., 2019), devido às suas excelentes características biomecânicas, tais como: tenacidade à fratura, resistência à flexão e biocompatibilidade, além de proporcionar estética satisfatória (MANICONE et al., 2007; DENRY; KELLY, 2008; MIYAZAKI et al., 2013).

Em temperatura ambiente, a zircônia apresenta estrutura cristalina monoclinica estável até 1.170°C e, entre esta temperatura até 2.370°C , apresenta uma fase tetragonal e, acima de 2.370°C , apresenta uma fase cúbica permanecendo estável até que atinja o seu ponto de fusão. Quando do processo inverso, o resfriamento da zircônia, a partir de altas temperaturas, faz com que haja alterações em sua estrutura, ocorrendo transformação da fase tetragonal para a fase monoclinica por volta de 950°C . Esta transformação está acompanhada por aumento substancial em seu volume (3 a 5%), o que pode levar à ocorrência de falhas catastróficas, que é conhecido como processo de degradação à baixas temperaturas (HARADA et al., 2016). Afim de evitar essas falhas, óxidos estabilizantes tais como CaO, MgO, Y_2O_3 ou CeO_2 são adicionados em sua composição para formar um cristal tetragonal (TPZ) estável, o que, do ponto de vista mecânico, é muito importante, por eliminar a indução de tensão devido à transformação tetragonal-monoclinica prevenindo, desta forma, a propagação de trincas, fato comumente observado nas cerâmicas de maneira geral (ARDLIN et al., 2002; DEVILLE et al., 2003; DENRY; KELLY, 2008; SUNDH et al., 2008; PASSOS et al., 2014).

Após confecção das peças protéticas cerâmicas por meio do sistema CAD-CAM, a superfície do material pode apresentar porosidades (NAKAMURA et al., 2007), ranhuras introduzidas durante a fresagem e diferentes tamanhos de grãos residuais (FRAGA et al., 2015).

Adicionalmente, apesar da precisão da tecnologia CAD-CAM, ajustes oclusais, normalmente, são necessários a fim de obter um ajuste aceitável ou uma relação oclusal adequada (ABOUSHELIB et al., 2010).

Superfícies externas rugosas podem predispor à cárie e à ocorrência de doença periodontal, influenciar nas características mecânicas (CONTRERAS et al., 2018; ZUCUNI et al., 2019), além de potencializar o desgaste dos dentes opostos (PREIS et al., 2013). Portanto, todos esses resultados podem influenciar na longevidade de tais restaurações e, portanto, os protocolos de acabamento, polimento e / ou glazeamento da superfície devem ser considerados obrigatórios para o efeito de suavização (redução da rugosidade da superfície e até da topografia), principalmente nas superfícies externas (ZUCUNI et al., 2019).

Os tratamentos superficiais dos materiais cerâmicos são considerados fundamentais para promover lisura e brilho da superfície, muito embora não haja consenso na literatura sobre a melhor técnica de tratamento de superfície a ser utilizada nas peças monolíticas, em especial para a Y-TZP (HMAIDOUCH et al., 2014; LAWAF et al., 2016; DAL PIVA et al., 2018), após a realização do ajuste oclusal realizado clinicamente. Os protocolos mais conhecidos e, rotineiramente, utilizados no atendimento clínico são o acabamento com pontas de granulação fina e extra-fina, glazeamento e borrachas abrasivas.

O glazeamento não é um requisito dos fabricantes, mas uma alternativa ao polimento, consistindo na aplicação de uma fina camada de material à base de sílica de baixa fusão (material vítreo) sobre a superfície externa da restauração, seguida por sinterização a uma temperatura menor que a queima da cerâmica (AKSOY et al., 2006; HAHNEL et al., 2009), possibilitando o selamento de possíveis ranhuras, microfissuras e porosidades existentes na superfície da cerâmica. Desta forma, é capaz de reduzir a rugosidade da superfície, diminuir o acúmulo de biofilme (HARALUR et al., 2012), reduzir desgaste de esmalte do dente antagonista (FAIRHURST et al., 1992; KUMCHAI et al., 2018), além de promover lisura e brilho, uma vez que aumenta a reflexão da luz e, conseqüentemente, contribui para uma estética satisfatória (HARALUR et al., 2012, ZUCUNI et al., 2017). Entretanto, estudos mostram que a queima do glaze pode reduzir a resistência à flexão das cerâmicas vítreas (FRAGA et al., 2015; AURÉLIO et al., 2015; AURÉLIO et al., 2018).

O acabamento com pontas de granulação fina e extra-fina consiste na remoção das camadas irregulares por abrasão com intuito de promover brilho e lisura, resultando em alteração da rugosidade de superfície (ALAO et al., 2017; MAI et al., 2019). Este tratamento é utilizado quando há necessidade de realizar ajuste oclusal e proximal da peça protética anteriormente à cimentação (ÍSERI et al., 2012; PEREIRA et al., 2016, ZUCUNI et al., 2017).

Entretanto, esses ajustes podem prejudicar o desempenho mecânico do material uma vez que falhas em sua superfície podem ser geradas (GREEN, 1983; KOSMAC et al., 1999; PEREIRA et al., 2016; ZUCUNI et al., 2017). Sabe-se que a resistência dos materiais cerâmicos depende diretamente da sua rugosidade da superfície (quanto mais áspera a superfície, menor sua resistência), e também deve ser destacada que as interfaces rugosas podem induzir a propagação de trincas e reduzir a resistência do material (SCHMITTER et al., 2015).

A rugosidade e energia livre de superfície do material têm papel importante na adesão e retenção bacteriana, o que contribui para formação inicial de biofilmes na região. (BOLLEN et al., 1997; HANNIG et al., 2009; SUBRAMANI et al., 2009; ANAMI et al., 2012; CONTRERAS et al., 2018). A energia de superfície está associada às características de ligação dos sólidos e, pode-se verificar que, quanto maior for a energia da superfície, maior será a capacidade de adesão no substrato (YOSHIDA et al., 2015). Na superfície do material existe uma rede de atração interna de moléculas que se concentram em uma grande massa de moléculas no material e essa força interna gera a energia de superfície do material (NOORT et al., 2010). Uma superfície não tratada apresenta menor energia de superfície se comparada aquela que apresenta microasperezas (ANUSAVICE et al., 2013).

As reabilitações múltiplas, que consistem em devolver a função biomecânica e estética por meio de próteses tanto sobre dentes como sobre implantes, possibilitam suprir as diferentes necessidades apresentadas na cavidade bucal do paciente. Porém, a ampla reabilitação acarreta na presença de micro-organismos diversos encontrados em superfícies de elementos dentais e alojados em áreas periimplatares. A presença de biofilme na interface elemento dental e material cerâmico coopera para ocorrência de lesões de cárie secundárias, como também para inflamação periodontal (HAHNEL et al., 2009); e a presença de biofilme associado ao implante leva a inflamação dos tecidos periimplatares ao seu redor afetando a osseointegração e, conseqüentemente, a sobrevida do implante dentário (FROUM et al., 2018).

A cavidade bucal é um ambiente complexo que apresenta fatores como variação de temperatura e pH, umidade, abundância de nutrientes, o que contribuem para presença de micro-organismos diversos e interações entre eles formando o biofilme microbiano (HAO et al., 2018). O biofilme dental apresenta uma matriz extracelular, interações de várias espécies, heterogeneidade estrutural e aloja-se em superfícies de materiais ou no elemento dental (BOWEN et al., 2011; ZHANG et al., 2015; VO et al., 2015). O biofilme aderido causa prejuízos devido a ação das bactérias instaladas.

A cárie dentária é decorrente da ação das bactérias presente no biofilme dental que causa desmineralização da estrutura devido aos ácidos produzidos pela atividade metabólica das

bactérias presentes, como *Streptococcus mutans*, que é uma espécie de bactéria Gram-positiva com morfologia de coco, capacidade acidogênica e acidúrica, pertencentes ao gênero *Streptococcus*, do grupo A de Lancefield (HAHNEL et al., 2012). Estudos evidenciam que próteses fixas apresentaram taxa de 10% de falhas e insucessos em 5 anos de utilização, em consequência da formação de cárie e problemas endodônticos (LAYTON, 2011; TOMAN et al., 2018; HAO et al., 2018).

A rugosidade de superfície em regiões sub-gengivais, acarreta um maior aumento de retenção de microrganismos, afetando estruturas periodontais ao seu redor e contribuindo para instalação de doenças periodontais reversíveis ou irreversíveis (QUIRYNEN et al., 1995; RASHID et al., 2014). Na presença de implante, o biofilme retido torna-se suscetível ao surgimento de doenças periimplantares e, se não tratada corretamente, pode levar a perda do implante dentário, sendo uma das principais causas de insucessos clínicos do implante (LINDHE et al., 2008; MOMBELLI et al., 2011). Apesar dos implantes dentários terem um alto índice de sucesso clínico, a literatura mostra que mais de 90% dos implantes sofrem algum tipo de complicação biológica (ADELL et al., 1990; BUSER et al., 1997; BUSENLECHNER et al., 2014; FROUM et al., 2018), sendo a periimplantite uma dessas complicações com taxa de prevalência da doença em 10% a 43% dos implantes instalados até 10 anos desde sua colocação (ROOS-JANSACKER et al., 2006; MOMBELLI et al., 2012; DERKS et al., 2015; FROUM et al., 2018).

A periimplantite é uma doença inflamatória que afeta tecidos moles e tecidos duros ao redor de implantes dentários. O fator etiológico primário está relacionado às bactérias, juntamente à presença de biofilme (FROUM et al., 2018). De acordo com a literatura, as bactérias *Porphyromonas gingivalis* e, especialmente, a *Prevotella intermedia/nigrescens*, bactérias Gram-negativas, patogênicas oportunistas, anaeróbicas obrigatórias, são frequentemente identificadas nas regiões de periimplantites (TAMURA et al., 2013; DA SILVA et al., 2014). Essas bactérias se aglomeram na região dos implantes e geram uma reação inflamatória dos tecidos circundantes resultando nas formações de bolsas e supuração, sendo que a contínua ação das bactérias presente no sítio periimplantar afetam o suporte ósseo dos implantes osseointegrados e essa perda óssea ocasiona mobilidade do implante dentário (LINDHE et al., 2008; GÜRLEK et al., 2017).

Diante da diversidade de materiais cerâmicos empregados nas reabilitações protéticas e diferentes protocolos para acabamento das restaurações, verifica-se que a literatura não é clara quanto ao melhor material a ser empregado do ponto de vista microbiológico (DAL PIVA et

al., 2018), visando a preservação da saúde periodontal e incidência de lesões cariosas, como também a situação mais favorável para a manutenção da reabilitação em longo prazo.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo foi avaliar a influência de diferentes materiais cerâmicos (cerâmica feldspática, dissilicato de lítio, silicato de lítio reforçado com óxido de zircônio, zircônia monolítica) e tratamentos de superfície das restaurações (controle, acabamento com pontas diamantadas e glazeamento) em relação à rugosidade de superfície e adesão de biofilme por *Streptococcus mutans* e *Prevotella intermedia*.

Objetivos específicos

- Analisar e comparar a rugosidade de superfície dos materiais após serem submetidos aos tratamentos de superfície por meio de microscopia confocal a laser.
- Analisar e comparar quantitativamente a formação e adesão de biofilme bacteriano nas superfícies dos materiais cerâmicos após serem submetidos aos tratamentos de superfície por meio da contagem de unidade formadora de colônias (UFCs).
- Analisar e comparar qualitativamente a morfologia da superfície da cerâmica e a influência de diferentes tratamentos de superfície sobre a rugosidade de superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Analisar e comparar qualitativamente a adesão dos biofilmes bacterianos nas superfícies das cerâmicas por meio de microscopia confocal de fluorescência.

Hipótese nula

As hipóteses nulas do estudo foram: i) os diferentes materiais cerâmicos e diferentes tratamentos de superfície das restaurações não afetariam na rugosidade de superfície; ii) os diferentes materiais cerâmicos e diferentes tratamentos de superfície das restaurações não afetariam na adesão de biofilme para *Prevotella intermedia*; iii) os diferentes materiais cerâmicos e diferentes tratamentos de superfície das restaurações não afetariam na adesão de biofilme para *Streptococcus mutans*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

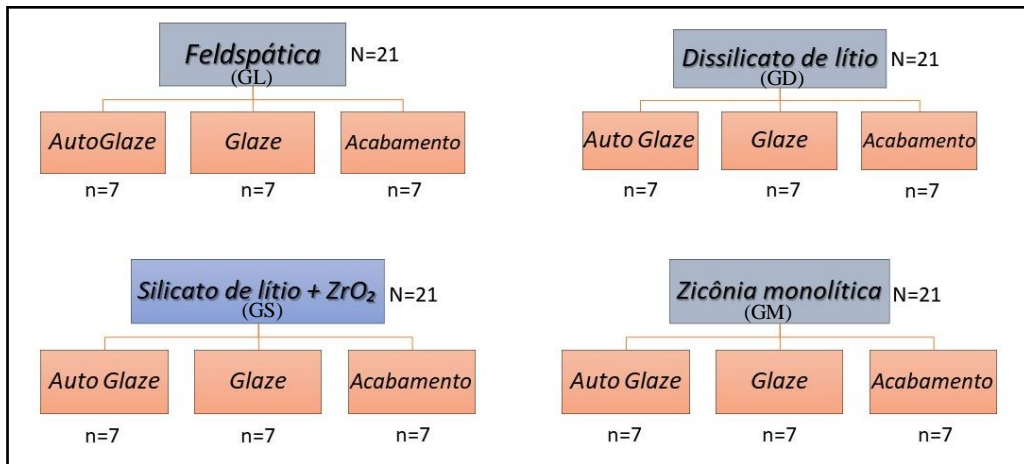
3.1 Delineamento do estudo

Este estudo foi conduzido com duas diferentes linhagens bacterianas: *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e *Prevotella intermedia* ATCC 25611, frequentemente observados em lesões de cárie e periodontopatias. Adicionalmente, os fatores de variação foram o material cerâmico (cerâmica feldspática, dissilicato de lítio, silicato de lítio reforçado com óxido de zircônio e zircônia monolítica) (Tabela I) e diferentes tratamentos de superfície (controle, acabamento com pontas diamantadas e glazeamento). As variáveis de resposta quantitativas foram a avaliação da adesão inicial de biofilme e unidades formadoras de colônias (UFCs) e rugosidade de superfície (Sa) por meio de microscopia de confocal a laser. Qualitativamente a variável de resposta foi a análise morfológica da superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise de adesão das bactérias por meio de microscopia confocal de fluorescência. A amostra do experimento foi composta por 84 corpos de prova, divididos em 12 grupos de estudo (n = 7), para cada bactéria estudada, totalizando 186 corpos de prova (Figuras 1 e 2).

Tabela I. Materiais cerâmicos, composição e fabricante utilizados no estudo

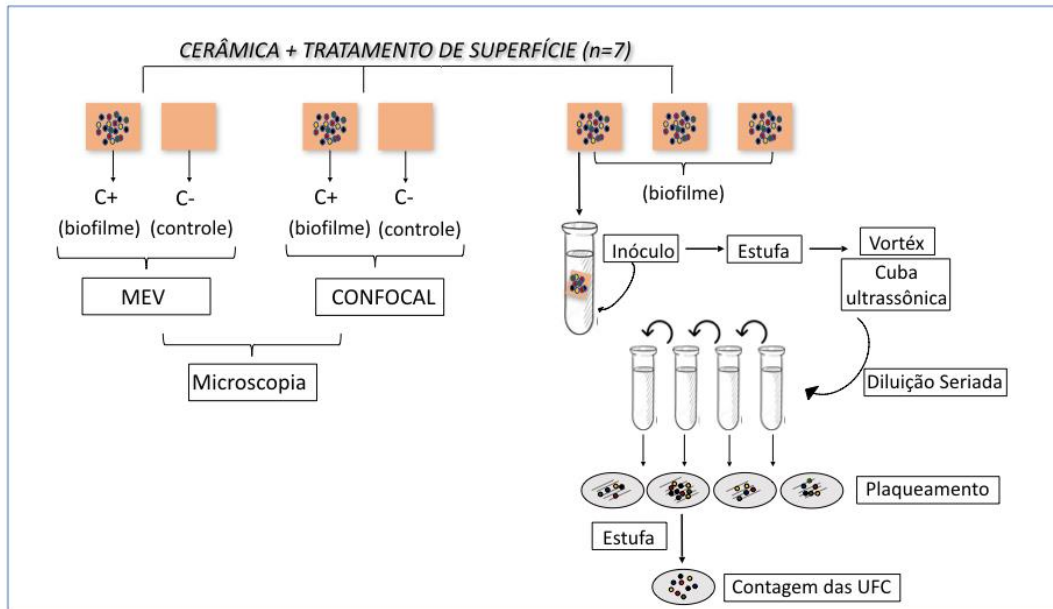
Grupo	Material	Composição	Fabricante
GL	IPS Empress CAD (cerâmica vítrea à base de leucita)	Componentes: SiO ₂ Conteúdo adicional: Al ₂ O ₃ , K ₂ O, Na ₂ O, e outros óxidos.	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
GD	IPS e.max CAD Blocks (Dissilicato de lítio)	Componentes: SiO ₂ Conteúdo adicional: Li ₂ O, K ₂ O, MgO, Al ₂ O ₃ , P ₂ O ₅ e outros óxidos.	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
GS	Vita Suprinity PC (Silicato de lítio reforçado com óxido de zircônio)	ZrO ₂ : 8 – 12% SiO ₂ : 56 – 64% Li ₂ O: 15 – 21% La ₂ O ₃ : 0,1% Pigmentos: < 10% Outros óxidos: > 10%	VITA Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co.KG, Bad Säckingen, Alemanha
GZ	ZirkOM SI (Zircônia monolítica)	ZrO ₂ – 94,39% Y ₂ O ₃ – 5,30% Outros óxidos – 0,31%	Qinhuangdao Aidite High- Technical Ceramics Co. Ltd., China

Figura 1. Fluxograma representativo dos grupos experimentais correspondente à cada bactéria estudada.



Fonte: Autor.

Figura 2. Fluxograma ilustrativo do delineamento experimental representativo para cada grupo estudado.



Fonte: Autor.

3.2 Obtenção dos corpos de prova

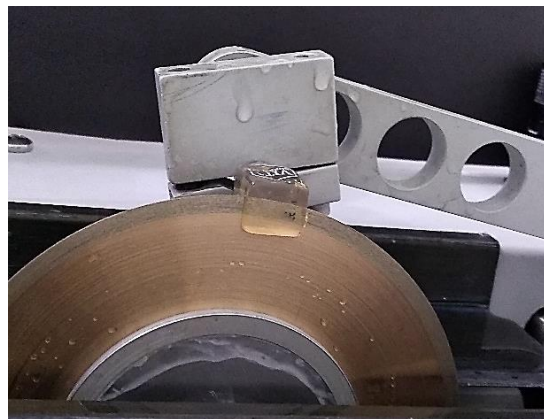
Blocos cerâmicos pré-sinterizados de cada sistema (Figura 3) foram seccionados com auxílio de cortadeira de precisão em baixa velocidade (250 r.p.m.) (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) e disco diamantado (15HC, Buehler) (Figura 4), a fim de obter 21 espécimes de cada material cerâmico com dimensões finais de 7 mm altura \times 6 mm de largura \times 2 mm de espessura (Figura 5). As medidas de corte para a zircônia foram de 7,2 mm de altura \times 8,4 mm de largura \times 2,5 mm de espessura, visto que o material sofre aproximadamente 20% de contração durante o processo de sinterização (Figuras 6 e 7) (POOLE et al., 2019). As amostras foram polidas em todas as suas faces utilizando lixas metalográficas de granulação #600-1200 SiC (3M, St. Paul, MN, EUA) (Figura 8), limpas ultrasonicamente (Alpha 3L Plus, Ecel, Ribeirão Preto, SP, Brasil) em banho de etanol isopropílico por 10 min e submetidas ao processo de cristalização/sinterização, utilizando fornos específicos de acordo com as recomendações dos fabricantes (Tabela II) (POOLE et al., 2019), sendo P500 (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) para GD e GS (Figura 8) e forno inFire HTC Speed (Sirona Dental Systems, GmbH, Alemanha) para GZ (Figura 9).

Figura 3. Blocos cerâmicos pré-sinterizados de cada sistema.



Fonte: Autor.

Figura 4. Secção do bloco cerâmico com auxílio de disco diamantado em cortadeira de precisão.



Fonte: Autor.

Figura 5. Dimensões finais dos corpos de prova.



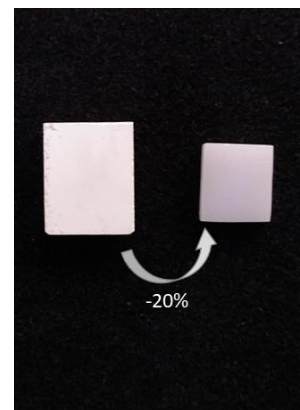
Fonte: Autor.

Figura 6. Dimensão da zircônia monolítica antes da sinterização.



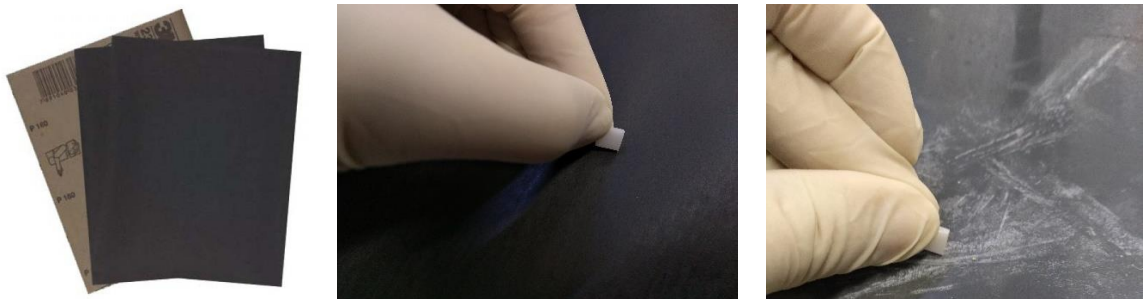
Fonte: Autor.

Figura 7. Zircônia monolítica antes e após procedimento de sinterização.



Fonte: Autor.

Figura 8. Sequência de polimento com lixas metalográficas de granulação #600-1200 SiC.



Fonte: autor

Figura 9. Forno P500 para o processo de cristalização dos grupos GD e GS.



Fonte: Autor.

Figura 10. Forno InFire HTC Speed para o processo de sinterização do grupo GZ.



Fonte: Autor.

Tabela II. Parâmetros utilizados para cristalização/sinterização dos materiais utilizados neste estudo

Parâmetros	GL	GD	GS	GZ
Temperatura inicial (°C)	-	403	400	ambiente
Tempo de fechamento (min)	-	6:00	4:00	-
Acréscimo de temperatura (°C/min) – t_1	-	90	55	20
Temperatura de queima (°C) – T_1	-	820	840	900
Tempo de manutenção (min) – H_1	-	0:10	8:00	10:00
Acréscimo de temperatura (°C/min) – t_2	-	30	-	10
Temperatura de queima (°C) – T_2	-	840	-	1530
Tempo de manutenção (min) – H_2	-	7:00	-	120:00
Vácuo 1: 1_1 (°C) / 1_2 (°C)	-	550/1022	410/839	-
Vácuo 1: 2_1 (°C) / 2_2 (°C)	-	820/1508	-	-
Resfriamento lento (°C) - L	-	700	680	500

3.3 Tratamentos de superfícies

As amostras cerâmicas obtidas para cada grupo foram submetidas a diferentes tratamentos de superfície (n = 7), conforme descrito a seguir:

3.3.1 Auto-glaze ou controle (AG):

Após os procedimentos de cristalização/sinterização preconizadas pelo fabricante, as amostras de todos os grupos foram polidas com lixas de granulação #600 – 1200 SiC conforme descrito anteriormente (Figura 10).

3.3.2 Glazeamento (G):

O tratamento de superfície por meio do glaze foi realizado de acordo com as recomendações de cada fabricante para cada material cerâmico: para GL e GD foi utilizado a mesma pasta glaze (IPS Ivocolor Glaze paste, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein); para GS foi a pasta glaze Vita Akzent Plus (VITA Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co.KG, Bad Säckingen, Alemanha) e para o GZ pasta glaze InSync Ceramic System (Qinhuangdao Aidite High-Technical Ceramics Co. Ltd., China) (Figura 11). As amostras foram previamente limpas ultrassônicamente em banho de etanol isopropílico por 10 min e, posteriormente, aplicada uma camada de glaze sobre todos os lados das superfícies das amostras cerâmicas, sendo posteriormente submetidas à queima, conforme os parâmetros preconizados pelos fabricantes (Tabela III).

Figura 11. Materiais utilizados no tratamento de superfície com glaze: IPS Ivocolor Glaze paste, Vita Akzent Plus e InSync Ceramic System, da esquerda para a direita, respectivamente.



Fonte: Autor

Tabela III. Parâmetros utilizados para glazeamento dos materiais utilizados neste estudo

Parâmetros	GL	GD	GS	GZ
Temperatura inicial (°C)	403	403	400	400
Tempo de fechamento (min)	6:00	6:00	4:00	-
Acréscimo de temperatura (°C/min) – t₁	60	90/30	80	45
Temperatura de manutenção (min) – H₁	710	820/ 840	4:00	-
Temperatura final (°C) – T₂	-	-	800	730
Tempo de manutenção (min) – H₂	1:00	0:10/7:00	1:00	1:00
Vácuo 1: 1₁ (°C) / 1₂ (°C)	450	550/ 820	-	600
Vácuo 1: 2₁ (°C) / 2₂ (°C)	709	820/ 840	-	-
Resfriamento lento (°C) - L	-	700	-	730

3.3.3 Acabamento (A):

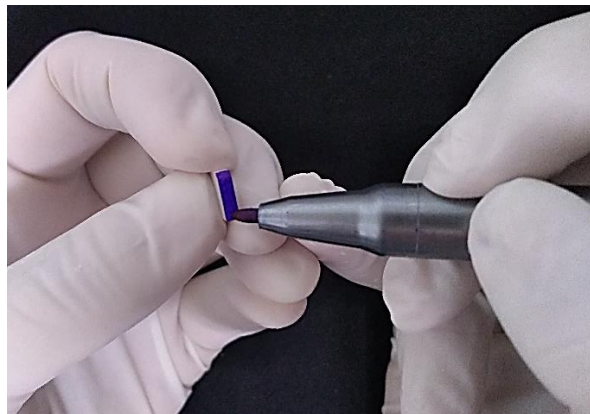
O tratamento de superfície foi realizado utilizando pontas diamantadas (# 3101G, granulação de 181 μm e # 3101FF, granulação de 25 μm , KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) acoplada a alta rotação (D700, Alliage, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (Figura 12), sob refrigeração constante com água, por meio de operador calibrado e treinado, sendo a ponta diamantada substituída a cada amostra. Para padronização do acabamento, todas as faces das amostras foram marcadas com caneta permanente (Pilot, São Paulo, Brasil) (Figura 13) cobrindo totalmente as superfícies das cerâmicas para, posteriormente, ser realizado o acabamento com as pontas específicas. As amostras foram posicionadas de modo que a ponta diamantada e a superfície do material ficassem paralelas entre si, permitindo movimentos horizontais contínuos até que toda marcação feita pela caneta fosse eliminada (DUTRA et al., 2017). (Figura 14) Após a realização do acabamento com pontas diamantadas, as amostras foram mensuradas com auxílio do paquímetro para aferir as dimensões iniciais, garantindo a padronização dos corpos de provas após o desgaste (DUTRA et al., 2017).

Figura 12. Materiais utilizados no tratamento de superfície por acabamento: caneta permanente, pinça, alta rotação, pontas diamantadas # 3101FF e # 3101G.



Fonte: Autor.

Figura 13. Marcação com caneta permanente nas superfícies da cerâmica.



Fonte: Autor.

Figura 14. Posicionamento da amostra e ponta diamantada para realização do acabamento.

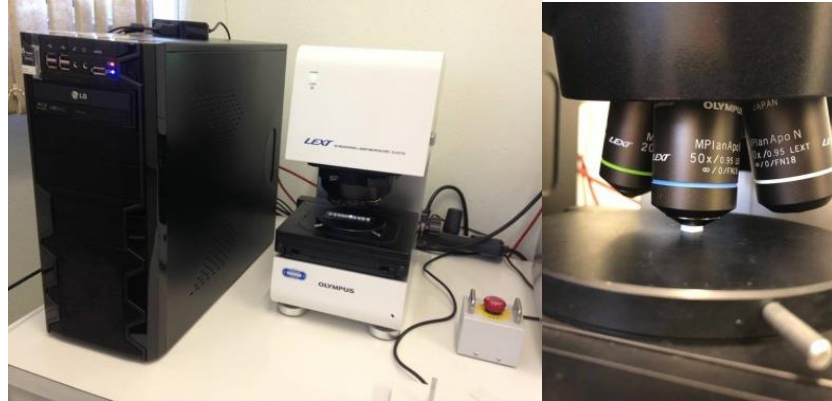


Fonte: autor

3.4 Avaliação da rugosidade de superfície

Previamente à análise da rugosidade média de superfície (μm), realizada em microscópio confocal por varredura à laser (LEXT OLS4000, Olympus, Waltham, MA, EUA), os corpos de prova ($n = 7$) foram imersos em álcool isopropílico e limpos por vibração ultrassônica (Alpha 3L Plus, Ecel, Ribeirão Preto, SP, Brasil) durante 10 minutos. As amostras foram posicionadas no microscópio de modo que a superfície teste permanecesse paralela à superfície da objetiva, sendo que as imagens foram capturadas com aumento de $50\times$ e precisão de registro de $0,2\ \mu\text{m}$. O microscópio utilizado foi acoplado a um programa (OLS4000, Olympus, Massachusetts, EUA) que permitiu a mensuração da rugosidade superficial de forma linear e em áreas determinadas (Figura 15). A área central da amostra ($500\ \mu\text{m}^2$) foi selecionada para a realização das mensurações de rugosidade linear, permitindo analisar a rugosidade média da superfície (S_a) do material cerâmico (ISO 25178) (SIQUEIRA et al., 2016), expressa como valor numérico (μm). Três medições equidistantes foram realizadas para cada corpo de prova. As mensurações foram conduzidas por um único examinador calibrado e treinado.

Figura 15. Microscópio confocal por varredura à laser.



Fonte: Autor.

3.5 Esterilização dos corpos de prova

Previamente a avaliação da adesão dos micro-organismos ao material cerâmico foi necessário eliminar qualquer possível contaminante na superfície dos corpos de prova ($n = 7$). Desta forma, os mesmos foram submetidos ao processo de esterilização, seguindo o protocolo de um ciclo em autoclave (OdontoBras, MK3000 III, 12L, Ribeirão Preto, SP, Brasil), correspondendo à temperatura de 134°C , sob pressão de 2 bars, por 1 hora (Figura 16) (POOLE et al., 2019).

Figura 16. Autoclave para a realização da esterilização dos corpos de prova.



Fonte: Autor.

3.6 Avaliação da adesão bacteriana

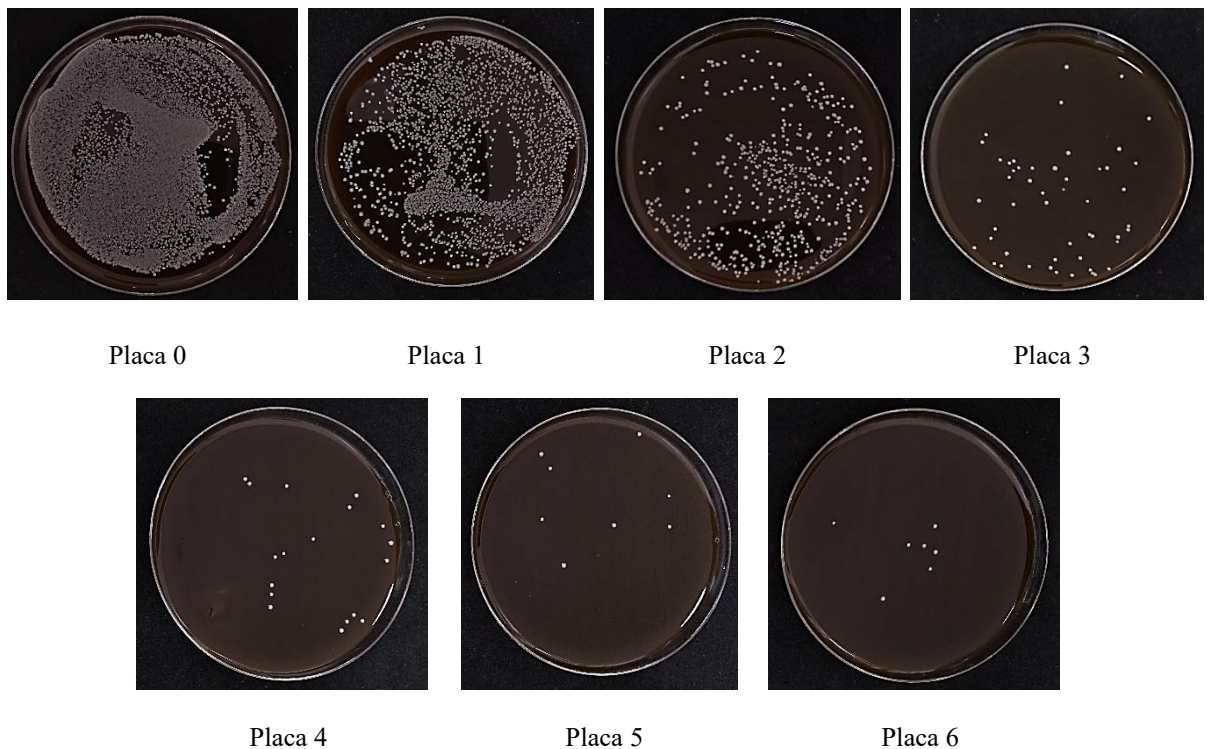
O meio de cultura utilizado para crescimento de biofilme bacteriano foi *Brain Heart Infusion* (BHI) a pH 7,0 para a cultura do *Streptococcus mutans* e BHI suplementado [caldo BHI suplementado com 1,5% de Agar bacteriológico (KASVI), 0,5% de Hemina (Inlab, São Paulo, SP, Brasil), 0,4% Menadiona (Inlab, São Paulo, SP, Brasil) e 5 % de sangue de carneiro desfibrilado (Newprov, Pinhais, PR, Brasil)] para a cultura de *Prevotella intermedia*. Os corpos de prova (n = 5) foram acondicionados em criotubos de poliestireno (Corning, São Paulo, SP, Brasil) de 2 mL. Os biofilmes foram produzidos pela adição de 500 µL de inóculo equivalente à escala 1 de McFarland (3×10^8 células bacterianas por mL) somado a 500 µL de BHI para *S. mutans* e BHI suplementado para *P. intermedia* e, posteriormente, incubados a 5% CO₂ (microaerofilia) para *S. mutans* e 10% de CO₂ (anaerobiose) para *P. intermedia*, em estufa a 37°C durante 48 h. O inóculo bacteriano foi renovado após 24 horas de incubação para garantir a viabilidade das células bacterianas na formação do biofilme (JOSHI et al., 2010).

3.6.1 Determinação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Após o crescimento do biofilme, os corpos de prova de cada grupo foram lavados com 1 ml de solução salina tamponada de fosfato (PBS) e, em seguida, removidos e colocados em tubos tipo Eppendorf de 2 mL (Kasvi, São José dos Pinhais, PR, Brasil) contendo 1 mL PBS (n = 3), posteriormente posicionados por 30 s em agitador tipo vórtex (Gehaka, São Paulo, SP, Brasil) em velocidade máxima e 480 s em cuba ultrassônica (Kondortech, São Carlos, SP, Brasil) para dispersão do biofilme. Depois disso, diluições seriadas (1:10) 100 µl da suspensão do biofilme desprendido foi diluídos em 900 µl de PBS, seguidos de seis diluições decimais (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6}) e alíquotas de 100 µl foram inoculadas de acordo com técnica *spread plate*, com auxílio de alça Drigalski em placas de Ágar Muller Hinton (MH) para *S. mutans* e Ágar BHI sangue suplementado para *P. intermedia*, para posterior contagem total das UFCs. As placas foram incubadas durante 24 horas a 37°C sob as condições descritas anteriormente. Os experimentos para contagem de UFCs foram realizados em triplicata para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos.

A contagem das UFCs foi realizada por um único operador calibrado e treinado, em duplicata, utilizando o *software* ImageJ (Fiji), contabilizando o total de UFCs referente à placa número três da sequência da diluição seriada (JOSHI et al., 2010) (Figura 17).

Figura 17. Sequência do plaqueamento de UFC da bactéria *P. intermedia* representativo do grupo GS e glazeamento como superfície de tratamento.



Fonte: Autor.

3.7 Avaliação da morfologia de superfície

A avaliação por microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos corpos de prova ($n = 2$) foi realizada em um espécime para cada situação: sem a formação do biofilme (controle negativo) e corpo de prova com biofilme aderido (controle positivo), a fim de avaliar qualitativamente a morfologia da superfície de cada material e a influência dos diferentes tratamentos de superfície sobre a rugosidade de superfície. Previamente, os corpos de prova foram lavados com PBS e colocados em tubos tipo Ependorf de 1,5 mL contendo glutaraldeído 2,5% durante 24 horas a 4°C para fixação da adesão bacteriana na superfície do material cerâmico. Em seguida, foram desidratadas em graduações ascendentes de etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 85 e 100%) por 5 minutos cada solução. Posteriormente, os corpos de prova foram colocados em dissecador por 24 horas. (LI et al., 2014; HUANG et al., 2017).

As amostras foram submetidas a metalização (SCD 050, Bal-Tec, Fürstentum, Liechtenstein), com tempo de recobrimento com ouro por 120 segundos, sob 0,1 mbar de vácuo e, posteriormente, avaliada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (EVO 50,

Carl Zeiss, Cambridge, UK) sob contraste topográfico e vácuo de 3×10^{-5} Torr, para que as imagens fossem capturadas com magnificação de $100 \times$, $5000 \times$ e $10000 \times$.

3.8 Microscopia Confocal de Fluorescência

Para avaliar a formação dos biofilmes nas cerâmicas foi realizada microscopia confocal de fluorescência (Microscópio Confocal Leica SP5, Wetzlar, Alemanha). Após formação dos biofilmes (48h), as amostras foram lavadas com 1 ml de PBS para remoção das células não aderidas. Os biofilmes foram corados com *kit* de viabilidade bacteriana (Live/Dead Bac Light Bacterial Viability and Counting Kit, Molecular Probes, Eugene, OR, EUA) por 15 minutos, seguindo o protocolo descrito por JOSHI et al. (2010). O kit contém dois marcadores fluorescentes, SYTO 9 na cor verde, que mancha células viáveis (penetra nas células com membranas intactas) e iodeto de isopropídeo vermelho, que cora células mortas (penetra nas células com membranas lesadas).

3.9 Análise dos resultados

O teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov para a normalidade e o teste de Levéne para homogeneidade não revelaram distribuição normal para os dados de rugosidade de superfície e UFCs para *S. mutans* ($p < 0,05$), porém evidenciou distribuição normal para os dados de UFCs para *P. intermedia* ($p > 0,05$). Os dados de rugosidade foram transformados em raiz quadrada e em \log_{10} para UFCs para *S. mutans*, conseguindo-se obter distribuição normal e variações iguais. As comparações estatísticas entre os diferentes materiais e tratamentos de superfície para rugosidade de superfície, UFC para *P. intermedia* e UFC para *Streptococcus mutans* foram realizadas utilizando ANOVA a 2 fatores e teste complementar de Tukey, com nível de significância de 5%. Os resultados foram analisados estatisticamente com auxílio do *software SPSS* (SPSS 15.0, SPSS Inc., EUA).

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação da rugosidade de superfície em microscopia confocal a laser

A ANOVA a 2 fatores mostrou efeito do material, tratamento e interação entre os fatores sobre a rugosidade de superfície ($p < 0,05$) (Tabela IV). Em relação aos tratamentos de superfície para cada material, o *post-hoc* de Tukey mostrou maiores valores de rugosidade de superfície para GL, GD e GS quando houve acabamento com pontas diamantads na superfície em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). No entanto, para GZ verificou-se maiores valores de rugosidade quando submetida ao glazeamento de superfície em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). Ao se comparar cada tratamento de superfície em relação aos materiais cerâmicos, verificou-se para o auto-glaze menores valores de rugosidade de superfície para o GS e maiores valores para o GZ ($p < 0,05$); para o glaze, maiores valores de rugosidade para GZ em relação aos demais materiais ($p < 0,05$) e valores de rugosidade semelhante estatisticamente para o acabamento com pontas diamantads ($p > 0,05$) (Tabela V).

Tabela IV. ANOVA a 2 fatores para a rugosidade de superfície

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4,478 ^a	11	0,407	9,189	0,000
Intercept	46,286	1	46,286	1044,712	0,000
Material	1,778	3	0,593	13,375	0,000
Tratamento	1,527	2	0,764	17,237	0,000
Material * Tratamento	1,173	6	0,196	4,414	0,001
Error	2,127	48	0,044		
Total	52,891	60			
Corrected Total	6,605	59			

a. R Squared = ,678 (Adjusted R Squared = ,604)

Tabela V. Valores da média de rugosidade de superfície (μm) e desvio padrão para cada material em relação aos diferentes tratamentos de superfície

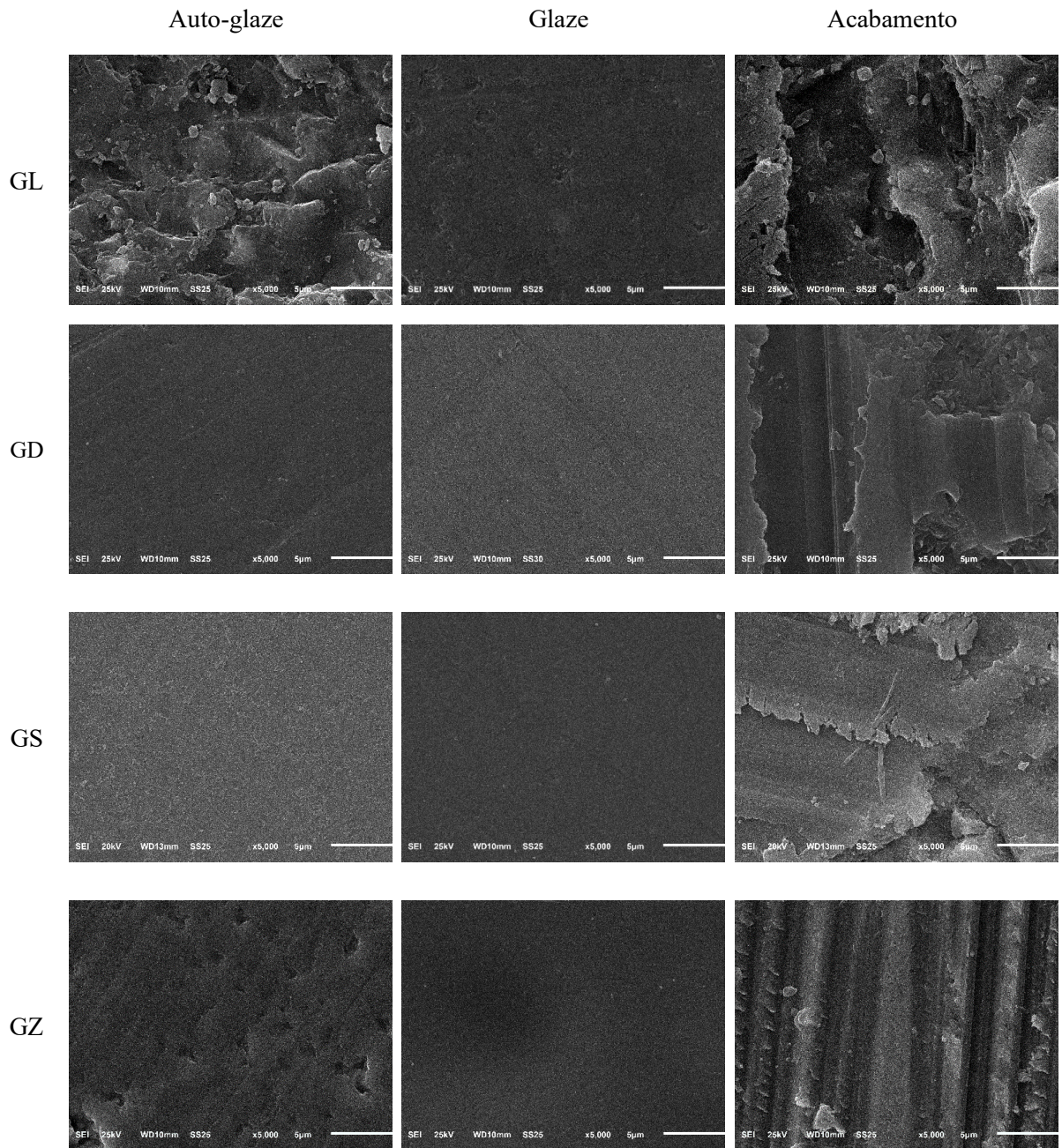
Materiais	Tratamentos		
	Auto-Glaze	Glaze	Acabamento
GL	0,67 ($\pm 0,11$) Aab	0,76 ($\pm 0,18$) Aa	1,04 ($\pm 0,09$) Ba
GD	0,59 ($\pm 0,18$) Aab	0,63 ($\pm 0,32$) Aa	1,03 ($\pm 0,15$) Ba
GS	0,50 ($\pm 0,09$) Aa	0,71 ($\pm 0,20$) Aa	1,05 ($\pm 0,09$) Ba
GZ	0,90 ($\pm 0,15$) Ab	1,51 ($\pm 0,45$) Bb	1,09 ($\pm 0,14$) Ab

*Letras minúsculas diferentes na mesma coluna e letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

4.2 Avaliação da morfologia de superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura

Observando-se qualitativamente a morfologia de superfície dos materiais submetidos aos diferentes tratamentos de superfície (controle negativo) por meio de MEV, verificou-se que a superfície apenas cristalizada/sinterizada (auto-glaze) mostrou-se mais irregular em relação àquelas que receberam a aplicação do glaze, o qual proporcionou uma topografia de superfície mais homogênea, com efeito de suavização. Já o acabamento com ponta diamantada alterou completamente o padrão topográfico, causando semelhante padrão de alteração da superfície, independentemente da composição do material cerâmico, sendo visualizados riscos paralelos seguindo a direção do movimento da ponta, criando ranhuras e superfícies irregulares, com maior rugosidade da superfície (Figura 18).

Figura 18. Imagens de microscopia eletrônica de varredura mostrando a rugosidade de superfície para os diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície (magnificação original de 5000×).



Fonte: Autor.

4.3 *Streptococcus mutans*

4.3.1 Avaliação da adesão de biofilme por contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs)

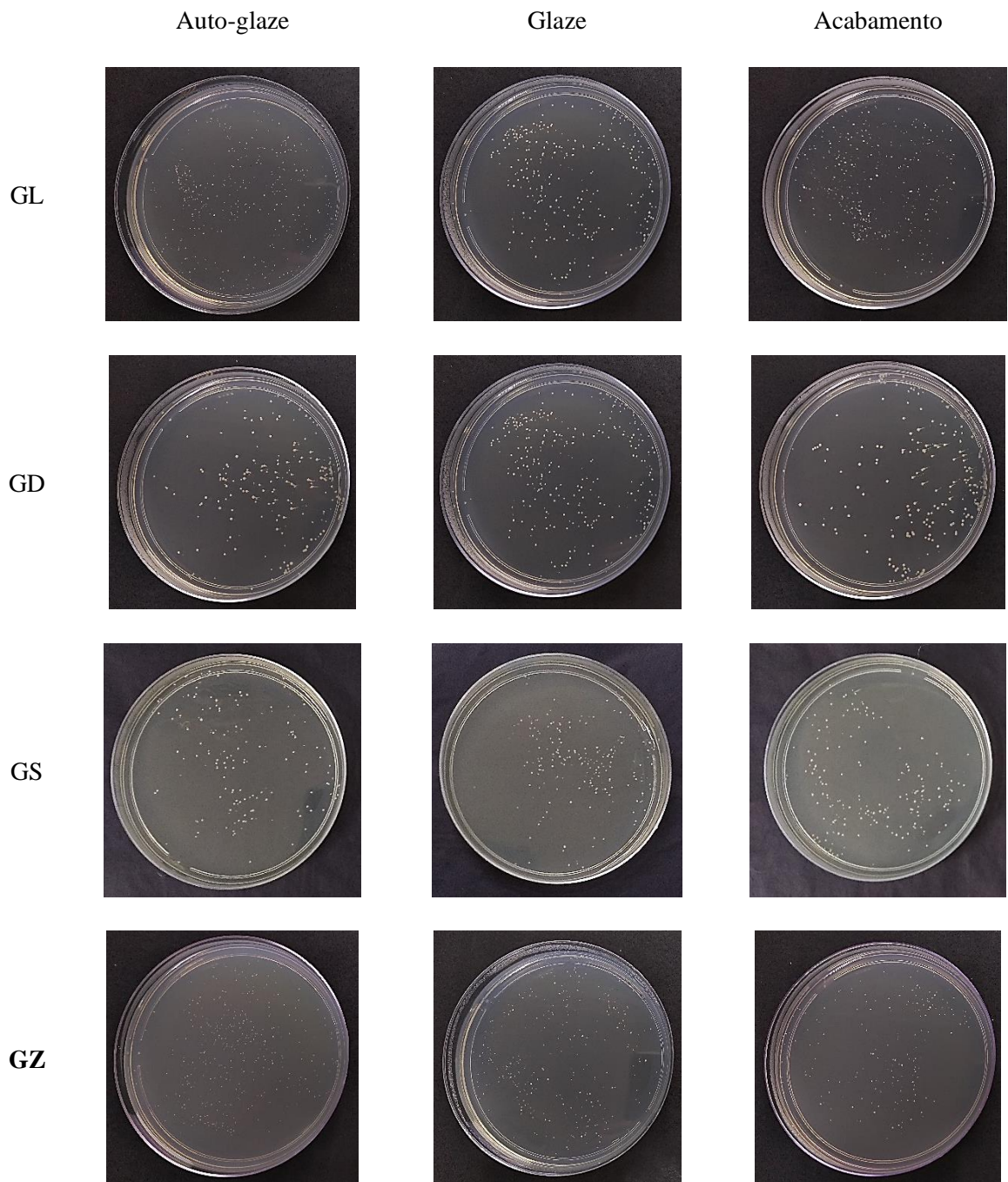
A ANOVA a 2 fatores mostrou não haver efeito do material, tratamento e interação entre os fatores para a UFC em relação ao *S. mutans* ($p > 0,05$) (Tabela VI) (Figura 19).

Tabela VI. ANOVA a 2 fatores para a UFC do *Streptococcus mutans*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,785 ^a	11	0,071	0,776	0,660
Intercept	244,761	1	244,761	2661,470	0,000
Material	0,127	3	0,042	0,462	0,711
Tratamento	0,075	2	0,038	0,409	0,669
Material * Tratamento	0,582	6	0,097	1,055	0,416
Error	2,207	24	0,092		
Total	247,753	36			
Corrected Total	2,992	35			

a. R Squared = ,262 (Adjusted R Squared = -,076)

Figura 19. Imagens macroscópicas representativas das placas contendo colônias de bactéria *Streptococcus mutans* (nº 3 da sequência) para contagem das UFCs, para os diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície.

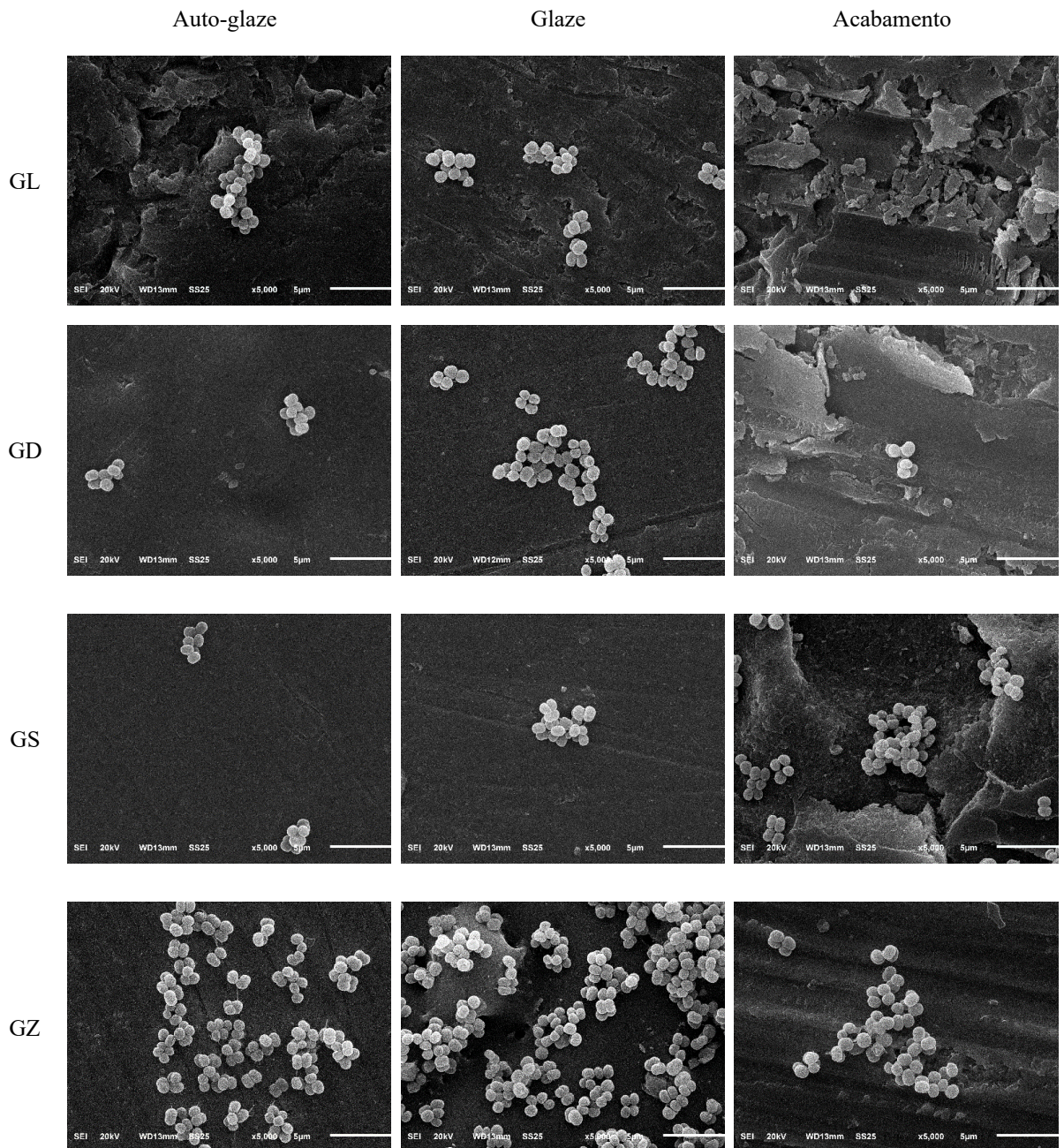


Fonte: Autor.

4.3.2 Avaliação da morfologia de superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura

Observando-se qualitativamente a morfologia das colônias de *S. mutans* sobre a superfície dos materiais submetidos aos diferentes tratamentos de superfície (controle positivo) por meio de MEV, verificou-se bactérias agregadas e distribuídas de modo pontual. GZ evidenciou maior quantidade de biofilme formado em sua superfície comparado aos demais materiais (GL, GD e GS), independentemente do tratamento de superfície (Figura 20).

Figura 20. Imagens de microscopia eletrônica de varredura mostrando a morfologia de superfície para os diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície colonizados por *Streptococcus mutans* (magnificação original de 5000×).

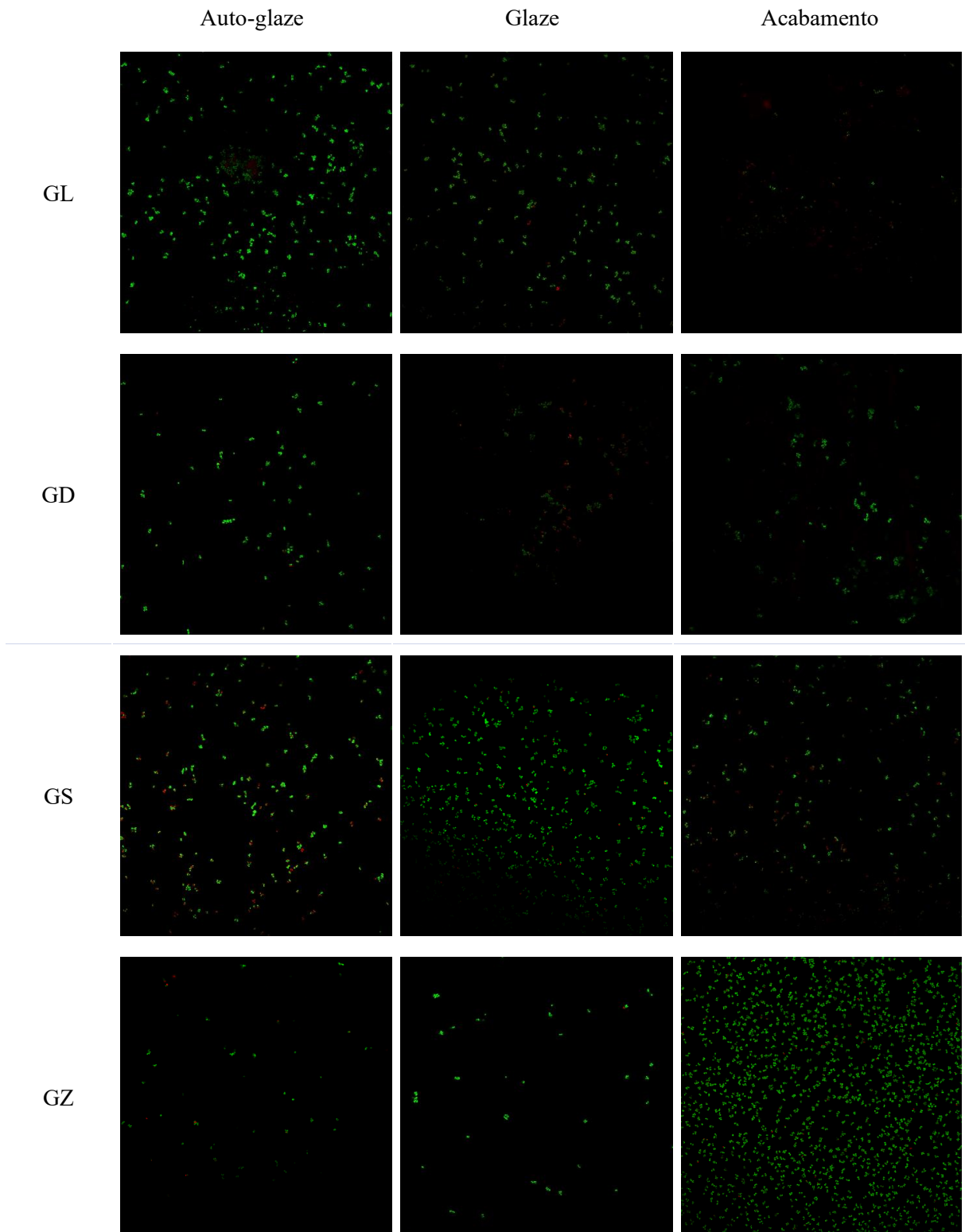


Fonte: Autor.

4.3.3 Avaliação da adesão bacteriana por meio de microscopia confocal de fluorescência

Analisando-se qualitativamente a susceptibilidade de adesão de *S. mutans* sobre a superfície dos materiais e tratamentos de superfície por meio de microscopia confocal de fluorescência, verificou-se maior adesão de bactérias vivas (coloração verde) em relação às bactérias mortas (coloração vermelho). A aderência e desenvolvimento de *S. mutans* foi semelhante para todos os grupos, com menor susceptibilidade de adesão bacteriana observada para as superfícies glazeadas, exceto para GZ (Figura 21).

Figura 21. Imagens de microscopia confocal de fluorescência mostrando a adesão de *Streptococcus mutans* sobre a superfície dos diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície (magnificação original de 63×).



Fonte: Autor.

4.4 *Prevotella intermedia*

4.4.1 Avaliação da adesão de biofilme por contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs)

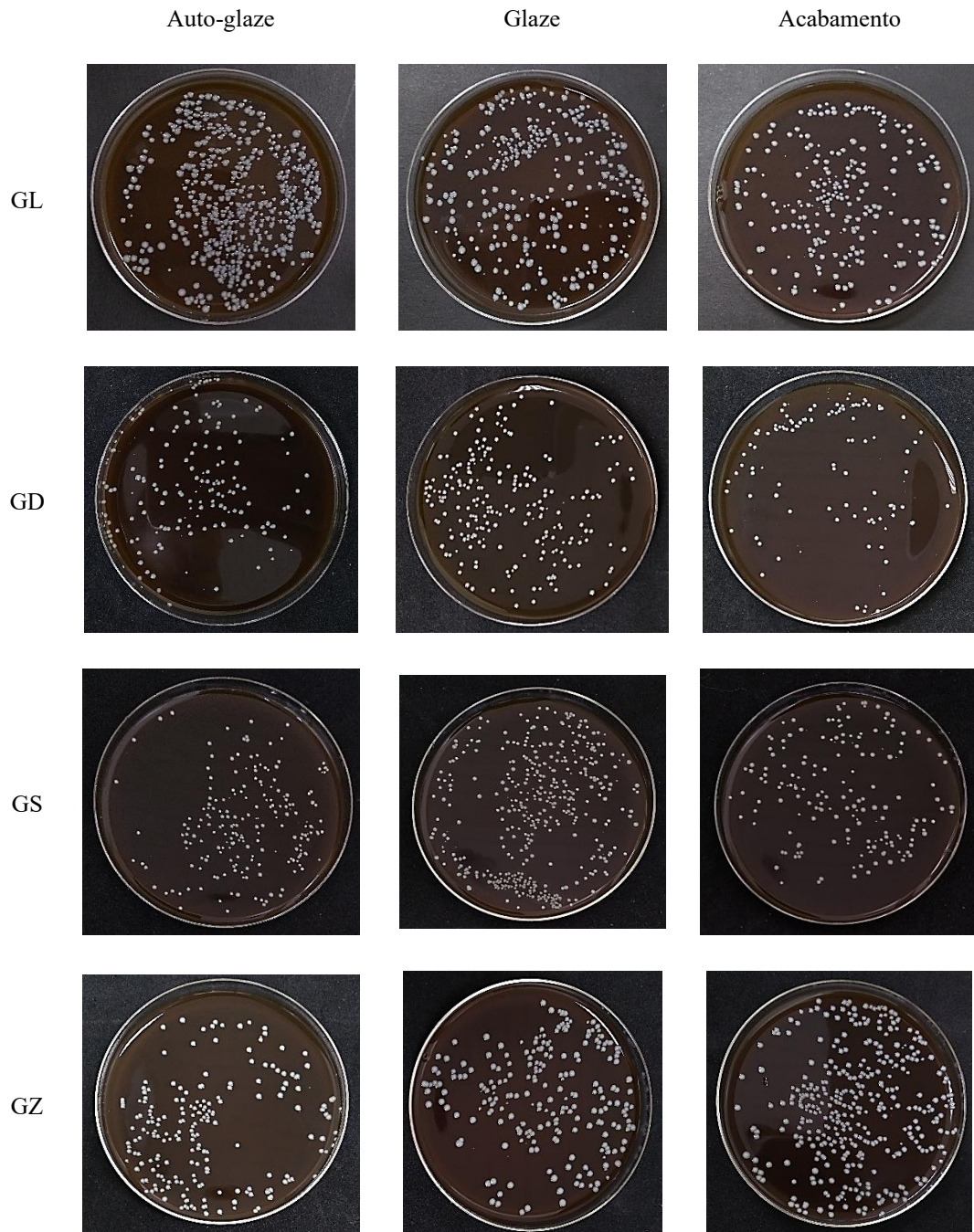
A ANOVA a 2 fatores mostrou efeito apenas para o material em relação a UFC para a *P. intermedia* ($p < 0,05$), não evidenciando diferença entre os diferentes tratamentos de superfície e interação entre os fatores ($p > 0,05$) (Tabela VII). Em relação aos materiais, o *post-hoc* de Tukey mostrou maior quantidade de UFCs para GL ($370,22 \times 10^3$) ($p < 0,05$), semelhantes e menores quantidades de UFCs para GS ($157,77 \times 10^3$) e GD ($211,44 \times 10^3$) e quantidades intermediárias de UFCs para GZ ($289,66 \times 10^3$) ($p < 0,05$) (Figura 22).

Tabela VII. ANOVA a 2 fatores para a UFC da *Prevotella intermedia*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	336577,222 ^a	11	30597,929	2,767	0,018
Intercept	2382906,778	1	2382906,778	215,461	0,000
Material	232257,889	3	77419,296	7,000	0,002
Tratamento	24269,556	2	12134,778	1,097	0,350
Material * Tratamento	80049,778	6	13341,630	1,206	0,337
Error	265430,000	24	11059,583		
Total	2984914,000	36			
Corrected Total	602007,222	35			

a. R Squared = ,559 (Adjusted R Squared = ,357)

Figura 22. Imagens macroscópicas representativas das placas contendo colônias de bactéria *Prevotella intermedia* (nº 3 da sequência) para contagem das UFCs, para os diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície.

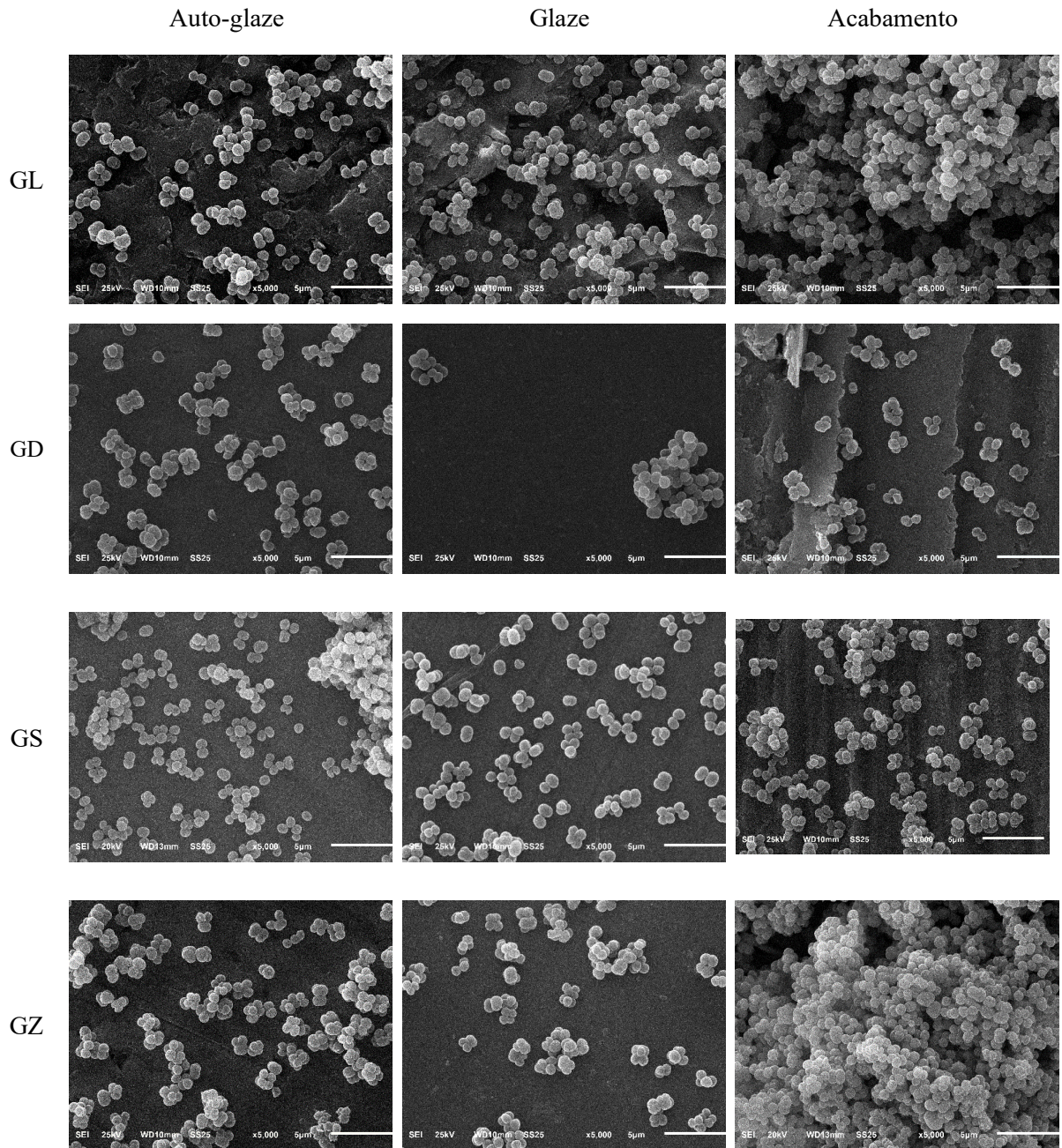


Fonte: Autor.

4.4.2 Avaliação da morfologia de superfície por meio de microscopia eletrônica de varredura

Observando-se qualitativamente a morfologia de superfície dos materiais submetidos aos diferentes tratamentos de superfície (controle positivo) por meio de MEV, pode-se verificar colônias bem distribuídas de *P. intermedia* ao longo de toda a superfície do material cerâmico. GL e GZ evidenciam maior quantidade de biofilme formado em sua superfície quando comparado à GD e GS, especialmente para as superfícies que foram submetidas ao acabamento com ponta diamantada (Figura 23).

Figura 23. Imagens de microscopia eletrônica de varredura mostrando a morfologia de superfície para os diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície colonizados por *Prevotella intermedia* (magnificação original de 5000×).

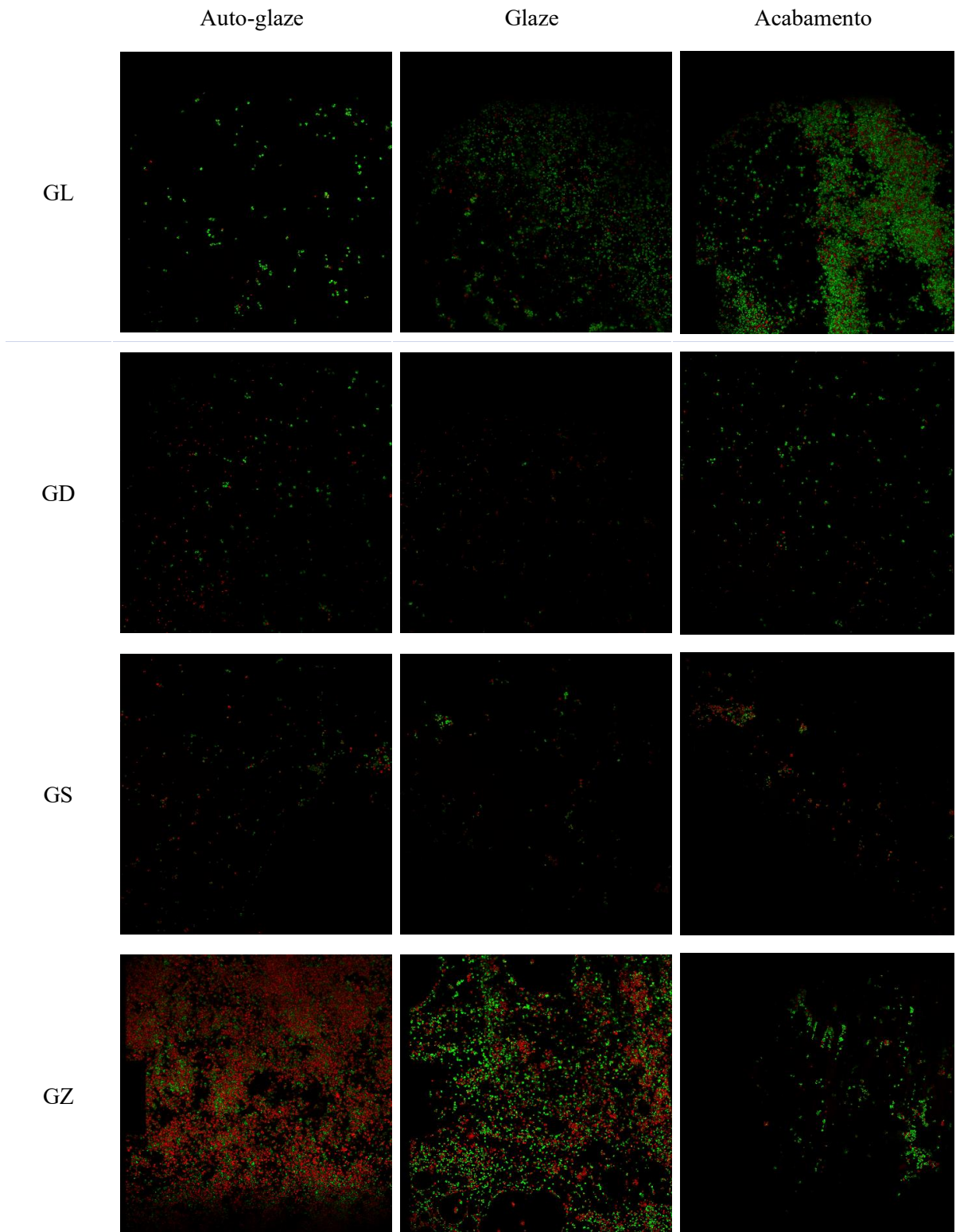


Fonte: Autor.

4.4.3 Avaliação da adesão bacteriana por meio de microscopia confocal de fluorescência

Durante a análise da susceptibilidade da superfície dos materiais e tratamentos de superfície à adesão de *P. intermedia* por meio de microscopia confocal de fluorescência, observou-se aderência e desenvolvimento de bactérias (vivas- coloração verde e mortas - coloração vermelha) semelhante para os grupos GL (exceto superfície com acabamento que apresentou susceptibilidade ligeiramente maior à adesão de bactérias), GD e GS. GZ foi caracterizado pela maior susceptibilidade de adesão bacteriana para todos os tratamentos de superfície em relação aos demais grupos. No entanto, este grupo (GZ) mostrou maior quantidade de bactérias mortas que vivas para a condição de auto-glaze (Figura 24).

Figura 24. Imagens de microscopia confocal de fluorescência mostrando a adesão da *Prevotella intermedia* sobre a superfície dos diferentes materiais cerâmicos e tratamentos de superfície (magnificação original de 63×).



Fonte: Autor.

5. DISCUSSÃO

A primeira hipótese nula deste estudo foi rejeitada visto que tanto os materiais cerâmicos quanto os tratamentos de superfície tiveram influência na rugosidade de superfície de restaurações protéticas.

A utilização de pontas diamantadas é um procedimento comum na prática clínica odontológica a fim de se obter melhor ajuste oclusal entre o material cerâmico e o dente antagonista. No presente estudo, o acabamento de superfície com pontas diamantadas de granulação fina e extra-fina produziram os maiores valores de rugosidade de superfície, principalmente no grupo da zircônia. Tal resultado valida a informação de que a correção com pontas diamantadas pode criar falhas superficiais como ranhuras, mostradas pela MEV, bem como outros problemas relatados na literatura como trincas semicirculares (HATANAKA et al., 2017), microfissuras e fissuras, dependendo do tamanho do diamante, força e velocidade de rotação (HATANAKA et al., 2017; HATANAKA et al., 2019; ZUCUNI et al., 2019).

Independentemente do tratamento de superfície utilizado, maior rugosidade de superfície foram observadas para a zircônia no presente estudo, semelhantemente aos resultados de DAL PIVA et al. (2018). Na literatura não existe um protocolo específico e ideal para acabamento da zircônia, sendo adaptado os protocolos utilizados nas outras cerâmicas para a YTZP. Sabe-se que a Y-TZP é uma cerâmica composta por estrutura policristalina densa e homogênea, com ausência de conteúdo vítreo ou presença de minúsculos traços de vidro (HUH et al., 2016). No entanto, a zircônia, previamente à sinterização, apresenta-se menos resistente mecanicamente. Assim, acredita-se que, a utilização das lixas de SiC nas granulações de #600 a #1200, adotadas no presente estudo para regularização da superfície dos materiais cerâmicos, possa ter criado defeitos na superfície Y-TZP pré-sinterizada (AL-HAJ HUSAIN et al., 2016; GRENADE et al., 2016), as quais não foram suavizadas durante o processo de sinterização, acarretando em maior rugosidade de superfície quando comparado aos grupos GL, GD e GS.

Por outro lado, a incompatibilidade de coeficiente térmico existente entre a zircônia e o glaze pode ter induzido à tensão residual, aumentando a probabilidade de falhas na superfície da Y-TZP, aumentando sua rugosidade de superfície. Adicionalmente, a forma de aplicação do glaze utilizado no presente estudo, por meio de pincel, pode ter levado a incorporação de bolhas, havendo a formação de ilhas, comprometendo a lisura superficial e, conseqüentemente, gerando maior rugosidade (DAL PIVA et al., 2018; ZUCUNI et al., 2019) em relação aos demais materiais estudados (leucita, dissilicato de lítio e silicato de lítio reforçado com óxido de zircônio).

Atualmente, além da preocupação em utilizar materiais duráveis e estéticos, busca-se em utilizar materiais que apresentem atividade antimicrobiana, inibindo a adesão e a colonização de microrganismos na cavidade bucal (DOBRZYNSKI et al., 2019). Assim, a tecnologia laboratorial de ponta tem possibilitado a obtenção de materiais cerâmicos caracterizados por biocompatibilidade, alta resistência química, baixa susceptibilidade à formação de biofilmes e baixa porosidade (ZIZZARI et al., 2013; TETE et al., 2014).

A adesão bacteriana inicial pode ser influenciada pela composição e estrutura superficial do material (ANAMI et al., 2012; PEREIRA et al., 2016, DOBRZYNSKI et al., 2019), pela composição química do material (como grãos, matriz orgânica, carga inorgânica, fluoreto e vários íons metálicos) (HAO et al., 2018), bem como pela hidrofobicidade da superfície cerâmica (AKSOY et al., 2006; SHIRTCLIFFE et al., 2010) e comunicação entre os microrganismos existentes onde podem melhorar ou inibir a formação de biofilme (AL-RADHA et al., 2012). Uma superfície hidrofílica implica em uma energia livre de superfície maior, o que acarreta mais adesão bacteriana (CAZZANIGA et al., 2015; HAO et al., 2018). Outro fator a ser levado em consideração é a composição dos materiais cerâmicos que podem influenciar diretamente na rugosidade do material (HAO et al., 2018). De acordo com o presente estudo, a Y-TZP apresentou maiores valores de rugosidade de superfície, o que pode estar relacionado ao fato de sua composição ser diferente das cerâmicas vítreas, que apresentam cristais mais homogêneos e limites mais suaves em sua fase vítrea circundante, enquanto as Y-TZPs apresentam maior porcentagem de conteúdo cristalino e são compostas por grãos policristalinos maiores (BELLI et al., 2017).

O biofilme pode conter cerca de 1.000 espécies de bactérias (D'ARGENIO; SALVATORE, 2015), podendo conter bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. As bactérias Gram-positivas, principalmente como o *S. mutans* predominam no biofilme supragengival, promovendo maior ocorrência de cárie dentária. Por outro lado, as bactérias Gram-negativas anaeróbias como *P. intermedia* predominam no biofilme subgengival, mais relacionadas à periodontopatias (MARSH, 2010; ARWEILER et al., 2019).

A segunda hipótese nula do estudo foi rejeitada, visto que os materiais cerâmicos tiveram influência na adesão de biofilme para *P. intermedia*. Visualmente por meio de MEV e microscopia confocal de fluorescência, a adesão bacteriana foi maior para as cerâmicas leucita (GL) e zircônia (GZ) e, numericamente, a contagem de UFCs foi estatisticamente semelhante para os dois materiais. Apesar dos tratamentos de superfície não terem mostrado diferença estatisticamente significativa, pôde-se verificar que os dados de rugosidade de superfície foram maiores e estatisticamente semelhantes para o grupo GZ e GL, sem tratamento de superfície,

sugerindo influência da rugosidade aos resultados de adesão bacteriana, além do que, sabe-se que o dissilicato de lítio apresenta boa capacidade anti-adesiva (DOBRZYNSKI et al., 2019).

Estudos têm mostrado correlação positiva entre a rugosidade e energia livre de superfície, propriedades hidrofílicas ou hidrofóbicas do material, com a quantidade de adesão de biofilme bacteriano (KILIC et al., 2013; DAL PIVA et al., 2018; DOBRZYNSKI et al., 2019). A rugosidade tende a acentuar a característica de molhabilidade da superfície, aumentando a energia livre da mesma (DAL PIVA et al., 2018). Valores de rugosidade inferiores a 0,2 μm têm menor relação com a colonização bacteriana; por outro lado, superfícies rugosas (maiores que 0,2 μm) fornecem proteção física às bactérias, além de maior área de contato para adesão bacteriana (QUIRYNEN et al., 1996; BORCHERS et al., 1999). Clinicamente, valores de rugosidade inferiores a 0,2 μm são dificilmente encontrados, tornando grande parte das reataurações passíveis de colonização bacteriana. Além destes fatores, a interação entre a bactéria e a superfície cerâmica está baseada em uma variedade de forças, incluindo as forças eletrostáticas e hidrofóbicas de Lifshitz-van der Waals e várias interações específicas receptor-ligante (HARRIS et al., 2004).

Em relação ao *S. mutans*, verificou-se ausência de influência dos materiais cerâmicos e tratamentos de superfície na adesão de biofilme, sendo aceita a terceira hipótese nula do presente estudo, o que está de acordo com DOBRZYNSKI et al. (2019) que mostraram que a adesão das cepas de *S. mutans* à superfície de materiais cerâmicos independem do método de polimento. Sugere-se que tal resultado esteja diretamente relacionado à hidrofilicidade da superfície dos materiais cerâmicos (QUIRYNEN et al., 1989), bem como do *S. mutans*, visto que a presença de polissacarídeos na superfície celular destas bactérias favorecem sua hidrofiliidade (DAL PIVA et al., 2018). Se a superfície for hidrofílica e uma película de líquido estiver presente, facilitará o contato direto entre o microrganismo hidrofílico e o substrato (DAL PIVA et al., 2018). Por isto acredita-se que o *S. mutans* é um dos primeiros colonizadores do biofilme supragengival inicial nas primeiras 8 horas (MEIER et al., 2008) e está presente em maior quantidade no biofilme oral (BURGERS et al., 2010).

Comparando-se as bactérias do presente estudo, pode-se inferir, diante das limitações existentes entre estas comparações, que *S. mutans* apresentou menor adesão bacteriana se, visualmente (MEV e microscopia confocal de fluorescência), comparado à *P. intermedia*. As bactérias Gram-negativas apresentam, predominantemente, maior energia de superfície variando entre 35 to 65 mNm, enquanto grande parte das bactérias Gram-positivas apresentam menores valores de energia livre de superfície, variando de 0 to 25 mNm (SHARMA; HANUMANTHA, 2002). Quanto mais próximo a energia livre de superfície do material e do

micro-organismo, maior a probabilidade de adesão (MINAGI et al., 1985). Assim, sugere-se que a rugosidade de superfície do material cerâmico pode favorecer a susceptibilidade de adesão bacteriana, visto que aumenta a energia livre de superfície. Consequentemente, o acabamento com pontas diamantadas deve ser evitado, especialmente quando a margem da restauração estiver localizada subgengivalmente.

Clinicamente, os resultados de susceptibilidade de adesão bacteriana em relação à superfície dos materiais restauradores é extremamente importante visto que, apesar de a formação do biofilme parecer inofensiva num primeiro momento, as bactérias que colonizam as restaurações cerâmicas podem levar à cárie secundária, alterações na mucosa oral, desmineralização do esmalte e a periodontopatias (EGAWA et al., 2013; TAWAKOLI et al., 2016), o que pode resultar, a longo prazo, em prejuízos tanto ao elemento dental restaurador como ao implante dentário. Desta forma, tão importante quanto a seleção do material cerâmico a ser utilizado como agente restaurador, está o modo como será realizado o acabamento de superfície da cerâmica, uma vez que tal procedimento é quase que mandatório ao final da cimentação das restaurações indiretas.

6. CONCLUSÕES

Baseados nos resultados e limitações do presente estudo *in vitro*, pode-se concluir que:

- Os materiais vítreos (leucita, dissilicato de lítio e silicato de lítio reforçado com óxido de zircônio) apresentam superfície mais lisa em relação à zircônia;
- O acabamento com pontas diamantadas gera maior rugosidade na superfície das cerâmicas;
- A rugosidade de superfície do material cerâmico parece favorecer a susceptibilidade de adesão da *Prevotella intermedia* em sua superfície;
- A susceptibilidade de adesão do *Streptococcus mutans* à superfície cerâmica independe do material cerâmico utilizado bem como do tratamento de superfície.

REFERÊNCIAS

- ABOUSHELIB, M.N.; WANG, H. Effect of surface treatment on flexural strength of zirconia bars. **J. Prosthet. Dent.**, v.104, n.2, p.98-104, 2010.
- ADELL, R.; ERIKSON, B.; LEKHOLM, U.; BRANEMARK, P.I.; JEMT, T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. **Int J Oral. Maxillofac. Implant.** v.5, p.347-359, 1990.
- AKSOY, G.; POLAT, H.; POLAT, M.; COSKUN, G. Effect of various treatment and glazing (coating) techniques on the roughness and wettability of ceramic dental restorative surfaces. **Colloids. Surf. B. Biointerfaces**, v.53, n.2, p.254-259, 2006.
- ALAO, A.R.; STOLL, R.; SONG, X.F.; MIYAZAKI, T.; HOTTA, Y.; SHIBATA, Y.; YIN, L. Surface quality of yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystal in CAD/CAM milling, sintering, polishing and sandblasting processes. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v.65, p.102-16, 2017.
- AL-HAJ HUSAIN, N.; CAMILLERI, J.; OZCAN, M. Effect of polishing instruments and polishing regimens on surface topography and phase transformation of monolithic zirconia: An evaluation with XPS and XRD analysis. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v.28, n.64, p.104-112, 2016.
- AL-RADHA, A.S.; DYMOCK, D.; YOUNES, C.; O'SULLIVAN, D. Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. **J. Dent.**, v.40, n.2, p.146-153, 2012.
- ANAMI, L.C.; PEREIRA, C.A.; GUERRA, E.; ASSUNCAO E SOUZA, R.O.; JORGE, A.O.; BOTTINO, M.A. Morphology and bacterial colonisation of tooth/ceramic restoration interface after different cement excess removal techniques. **J. Dent.**, v.40, n.9, p.742-749, 2012.
- ANUSAVICE, K. J.; SHEN, C.; RAWLS, H. R. Cerâmicas odontológicas. In: ANUSAVICE, K. J.; SHEN, C.; RAWLS, H. R. *Phillips Materiais Dentários*. 12. Ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier. p. 418-473, 2013.
- ARDLIN, B.I. Transformation-toughened zirconia for dental inlays, crowns and bridges: chemical stability and effect of low-temperature aging on flexural strength and surface structure. **Dent. Mater.**, v.18, p. 590-595, 2002.
- ARWEILER, N.B.; MARX, V.K.; LAUGISCH, O.; SCULEAN, A.; AUSCHILL, T.M. Clinical evaluation of a newly developed chairside test to determine periodontal pathogens. **J. Periodontol.**, 2019. doi: 10.1002/JPER.19-0180. [InPress].
- AURÉLIO, I.L.; FRAGA, S.S.; DORNELES, L.S.; BOTTINO, M.A.; MAY, L.G. Extended glaze firing improves flexural strength of a glass ceramic. **Dent. Mater.**, v.31, n.12, p.316-24, 2015.
- AURÉLIO, I.L.; PROCHNOW, C.; GUILARDI, L.F.; RAMOS, G.F.; BOTTINO, M.A.; MAY, L.G. The effect of extended glaze firing on the flexural fatigue strength of hard-machined ceramics. **J. Prosthet. Dent.**, v.120, n.5, p.755-761, 2018.
- BOLLEN, C.M.L.; LAMBRECHTS, P.; QUIRYNEN, M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: A review of the literature. **Dent. Mater.**, v.13, n.4, p.258-269, 1997.

- BORCHERS, F.; TAVASSOL, H.; SCHERNITSCHKEK, T. Surface quality achieved by polishing and by varnishing of temporary crown and fixed partial denture resins. **J. Prosthet. Dent.**, v.82, n.5, p.550-556, 1999.
- BOWEN, W.H.; KOO, H. Biology of Streptococcus mutans-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. **Caries Res.**, v.45, p.69-86, 2011.
- BURGERS, R.; GERLACH, T.; HAHNEL, S.; SCHWARZ, F.; HANDEL, G.; GOSAU, M. In vivo and in vitro biofilm formation on two different titanium implant surfaces. **Clin. Oral Implants Res.**, v.21, n.2, p.156-164, 2010.
- BUSENLECHNER, D.; FURHAUSER, R.; HAAS, R.; WATZEK, G.; MAILATH, G.; POMMER, B. Longterm implant success at the Academy for Oral Implantology: 8-year follow-up and risk factor analysis. **J. Period. Implant Sci.**, v.44, p.102–108, 2014.
- BUSER, D.; MERICSKE-STERN, R.; BERNARD, J.P.; ET, A.L. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multicenter study with 2359 implants. **Clin. Oral Implants Res.**, v.8, p.161–172, 1997.
- CAZZANIGA, G.; OTTOBELLI, M.; IONESCU, A. Surface properties of resin-based composite materials and biofilm formation A review of the current literature. **Am. J. Dent.** v.28, p.311–320, 2015.
- CONTRERAS, L.P.C.; DAL PIVA, A.M.O.; RIBEIRO, F.C.; ANAMI, L.C.; CAMARGO, S.E.A.; JORGE, A.O.C.; BOTTINO, M.A. Effects of manufacturing and finishing techniques of feldspathic ceramics on surface topography, biofilm formation, and cell viability for human gingival fibroblastos. **Oper. Dent.**, v.43, n.6, p.593-601, 2018.
- D'ARGENIO, V.; SALVATORE, F. The role of the gut microbiome in the healthy adult status. **Clin. Chim. Acta.**, v.451, n.Pt A, p.97-102, 2015.
- DAL PIVA, A.M.O.; CONTRERAS, L.P.C.; RIBEIRO, F.C.; ANAMI, L.C.; CAMARGO, S.E.A.; JORGE, A.O.C.; BOTTINO, M.A. Monolithic Ceramics: Effect of Finishing Techniques on Surface Properties, Bacterial Adhesion and Cell Viability. **Oper. Dent.**, v.43, n.3, p. 315-325, 2018.
- DUTRA, D.A.M.; PEREIRA, G.K.R., KANTORSKI, K.Z., EXTERKATE, R.A.M., KLEVERLAAN, C.J., VALANDRO, L.F., ZANATTA, F.B. Grinding With Diamond Burs and Hydrothermal Aging of a Y-TZP Material: Effect on the Material Surface Characteristics and Bacterial Adhesion. **Oper. Dent.**, v.42, n.6, p. 669-678, 2017.
- DA SILVA, E.S.; FERES, M.; FIGUEIREDO, L.C.; SHIBLI, J.A.; RAMIRO, F.S.; FAVERI, M. Microbiological diversity of peri-implantitis biofilm by Sanger sequencing. **Clin. Oral Implants Res.**, v.25, p.1192-1199, 2014.
- DA SILVA, L.I.; DE LIMA, E.; MIRANDA, R.B.P.; FAVERO, S.S.; LOHBAUER, U., CESAR, P.F. Dental ceramics: a review of new materials and processing methods. **Braz. Oral Res.**, v.31, p.133-146, 2017.
- DELLA BONA, A.; MECHOLSKY, Jr.J.J.; ANUSAVICE, K.J. Fracture behavior of lithia disilicate- and leucite-based ceramics. **Dent. Mater.**, v.20, n.10, p.956-962, 2004.
- DENRY, I., HOLLOWAY, J.A. Ceramics for dental applications: a review. **Materials**, v.3, p.351–68, 2010
- DENRY, I.; KELLY, J.R. State of the art of zirconia for dental applications. **Dent. Mater**, v.24, p.299-307, 2008.

- DERKS, J.; TOMASI, C. Peri - implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. **J. Clin. Periodontol.**, v.42, p.158–171, 2015.
- DEVILLE, S.; CHEVALIER, J.; FANTOZZI, G.; BARTOLOME, J.F.; REQUENA, J.; MOYA, J.S.; TORRECILLAS, R.; DÍAZ, L.A. Low-temperature ageing of zirconia-toughened alumina ceramics and its implication in biomedical implants. **J. Eur. Ceram., Soc.**, v.23, p.2975-2982, 2003.
- DOBRZYNSKI, M.; PAJACZKOWSKA, M.; NOWICKA, J.; JAWORSKI, A.; KOSIOR, P.; SZYMONOWICZ, M.; KUROPKA, P.; RYBAK, Z.; BOGUCKI, Z.A.; FILIPIAK, J.; TARGONSKA, S.; CIUPA-LITWA, A.; HAN, A.; WIGLUSZ, R.J. Study of Surface Structure Changes for Selected Ceramics Used in the CAD/CAM System on the Degree of Microbial Colonization, In Vitro Tests. **Biomed. Res. Int.**, v.12, n.2019, p.9130806, 2019.
- EGAWA, M.; MIURA, T.; KATO, T.; SAITO, A.; YOSHINARI, M. In vitro adherence of periodontopathic bacteria to zirconia and titanium surfaces. **Dent. Mater.**, v.32, n.1, p.101-106, 2013.
- FAIRHURST, C.W.; LOCKWOOD, P.E.; RINGLE, R.D.; THOMPSON, W.O. The effect of glaze on porcelain strength. **Dent. Mater.**, v.8, n.3, p.203–207, 1992.
- FRAGA, S.; VALANDRO, L.F.; BOTTINO, M.A.; MAY, L.G. Hard machining, glaze firing and hydrofluoric acid etching: do these procedures affect the flexural strength of a leucite glass-ceramic? **Dent. Mater.**, v.31, n.7, p.131-40, 2015.
- FROUM, S.J.; ROSEN, P.S.; WANG, W.C.; FROUM, S.H.; VINAYAK, S. Retrospective Evaluation of Factors Related to the Outcomes of Regenerative Therapy for Implants Affected by Peri-implantitis. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v.38, n.2, p.181-187, 2018.
- GREEN, D.J. A technique for introducing surface compression into zirconia ceramics. **J. Am. Ceram. Soc.** v.66, n.10, p178–189, 1983.
- GRENADE, C.; DE PAUW-GILLET, M.C.; GAILLY, P.; VANHEUSDEN, A.; MAINJOT, A. Biocompatibility of polymer-infiltrated-ceramic-network (PICN) materials with human gingival fibroblasts (HGFs). **Dent. Mat.**, v. 32, n.9, p.1152-1164, 2016.
- GUESS, P.C.; SCHULTHEIS, S.; BONFANTE, E.A.; COELHO, P.G.; FERENCZ, J.L.; SILVA, N.R. All-ceramic systems: Laboratory and clinical performance. **Dent. Clin. North Am.**, v.55, p.333-352, 2011.
- GÜRLEK, O.; GÜMÜŞ, P.; NILE, C.J.; LAPPIN, D.F.; BUDUNELI, N. Biomarkers and Bacteria Around Implants and Natural Teeth in the Same Individuals. **J. Periodont.**, v.88, n.8, p.752-761, 2017.
- HAHNEL, S.; MÜHLBAUER, G.; HOFFMANN, J.; IONESCU, A.; BÜRGERS, R.; ROSENTRITT, M.; HANDEL, G.; HÄBERLEIN, I. **Acta. Odontol. Scand.**, v.70, n.2, p. 114-121, 2012.
- HAHNEL, S.; ROSENTRITT, M.; HANDEL, G.; BÜRGERS, R. Surface characterization of dental ceramics and initial streptococcal adhesion in vitro. **Dent. Mater.**, v.25, n.8, p. 969–975, 2009.
- HANNIG, C.; HANNIG, M. The oral cavity a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. **Clin. Oral Investig.**, v.13, n.2, p.123-139, 2009.

- HAO, Y.; HUANG, X.; ZHOU, X.; LI, M.; REN, B.; PENG, X.; CHENG, L. Influence of Dental Prosthesis and Restorative Materials Interface on Oral Biofilms. **Int. J. Mol. Sci.**, v.19, n.10, p.1-17, 2018.
- HARADA, K.; SHINYA, A.; GOMI, H.; HATANO, SHINYA, A.; RAIGRODSKI, A.J.; Effect of accelerated aging on the fracture toughness of zirconia. **J. Prosthet. Dent.**, v.115, p.215-223, 2016.
- HARALUR, S.B. Evaluation of efficiency of manual polishing over autoglazed and overglazed porcelain and its effect on plaque accumulation. **J. Adv. Prosthodont.**, v.4, n.4, p.179–186, 2012.
- HARRIS, L.G.; TOSATTI, S., WIELAND, M.; TEXTOR, M.; RICHARDS, R.G. Staphylococcus aureus adhesion to titanium oxide surfaces coated with non-functionalized and pep- tide-functionalized poly(L-lysine)-grafted-poly(ethylene glycol) copolymers. **Biomaterials**, v.25, n.18, p.4135-4148, 2004.
- HATANAKA, G.R.; POLLI, G.S.; FAIS, L.M.G.; REIS, J.M.D.S.N.; PINELLI, L.A.P. Zirconia changes after grinding and regeneration firing. **J. Prosthet. Dent.**, v. 118, n.1, p.61-68, 2017.
- HATANAKA, G.R.; POLLI, G.S.; ADABO, G.L. The mechanical behavior of high-translucent monolithic zirconia after adjustment and finishing procedures and artificial aging. **J. Prosthet. Dent.**, pii: S0022-3913(19)30022-8, 2019. doi: 10.1016/j.prosdent.2018.12.013. [InPress]
- HMAIDOUCH, R.; MULLER, W.D.; LAUER, H.C.; WEIGL, P. Surface roughness of zirconia for full-contour crowns after clinically simulated grinding and polishing. **Int. J. Oral. Sci.**, v.6, n.4, p.241-246, 2014.
- HUANG, X.; ZHANG, K.; DENG, M.; EXTERKATE, R.A.M.; LIU, C.; ZHOU, X.; CHENG, L.; TEN CATE, J. M. Effect of arginine on the growth and biofilm formation of oral bacteria. **Arch. Oral Biol.**, v. 82, p. 256-262, 2017.
- HUH, Y.H.; PARK, C.J.; CHO, L.R. Evaluation of various polishing systems and the phase transformation of monolithic zirconia. **J. Prosthet. Dent.**, v.116, p.440–449, 2016.
- ÍSERI, U., ÖZKURT, Z., YALNIZ, A., KAZAZOĞLU, E. Comparison of different grinding procedures on the flexural strength of Zirconia. **J. Prosthet. Dent.**, v.107, n.5, p.309–315, 2012.
- JOSHI, S. G., Paff, M., FRIEDMAN, G., Fridman, G., FRIDMAN, A., BROOKS, A. D. Control of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in planktonic form and biofilms: a biocidal efficacy study of nonthermal dielectric-barrier discharge plasma. **Am. J. Infect. Control.**, v. 38, n. 4, p. 293-301, 2010.
- KILIC, K.; KESIM, B.; SUMER, Z.; POLAT, Z.; KESIM, S. In vitro cytotoxicity of all-ceramic substructural materials after aging. **J. Dent. Sci.**, v.8, n.3, p.231-238, 2013.
- KOSMAC, T., OBLAK, C., JEVNIKAR, P., FUNDUK, N., MARION, L. The effect of surface grinding and sandblasting on flexural strength and reliability of Y-TZP zirconia ceramic. **Dent. Mater.** v.15, n.6, p.426–433, 1999.
- NOORT, R.V. Cerâmicas Odontológicas. Introdução aos materiais dentários. 3. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- KUMCHAI, H.; JUNTAVEE. P.; SUN, A.F.; NATHANSON, D. Effect of Glazing on Flexural Strength of Full-Contour Zirconia. **Int. J. Dent.**, v.2018, p.1-5, 2018.

- LAWAF, S.; AZIZI, A.; FARZAD, A.; ADIMI, P. Effect of surface treatments of porcelain on adhesion of Candida albicans. **Gen. Dent.**, v.64, n.4, p.1-4, 2016.
- LAYTON, D. A critical appraisal of the survival and complication rates of tooth-supported all-ceramic and metal-ceramic fixed dental prostheses the application of evidence-based dentistry. **Int. J. Prosthodont.** V.24, p. 417–427, 2011.
- LI, R.W.K., CHOW, T.W., MATINLINNA, J.P. Ceramic dental biomaterials and CAD/CAM technology: state of the art. **J. Prosthodont. Res.**, v.58, p.208–216, 2014.
- LINDHE, J.; MEYLE, J.; GROUP, D. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. **J. Clin. Periodontol.** v.35, p.282–285, 2008.
- MA, L.; GUESS, P.C.; ZHANG, Y. Load bearing properties of minimal-invasive monolithic lithium disilicate and zirconia occlusal onlays: Finite element and theoretical analyses. **Dent. Mater.**, v.29, p.742-751, 2013.
- MAI, H.N.; HONG, S.H.; KIM, S.H.; LEE, D.H. Effects of different finishing/polishing protocols and systems for monolithic zirconia on surface topography, phase transformation, and biofilm formation. **J. Adv. Prosthodont.**, v.11, n.2, p.81-87, 2019.
- MANICONE, P.F.; IOMMETTI, P.R.; RAFFAELLI, L. An overview of zirconia ceramic: basic properties and clinical applications. **J. Dent.**, v.35, p.819-829, 2007.
- MARSH, P.D. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. **Dent. Clin. North. Am.**, v.54, n.3, p.441–454, 2010.
- MEIER, R.; HAUSER-GERSPACH, I.; LU THY, H.; MEYER, J. Adhesion of oral streptococci to all-ceramics dental restorative materials in vitro. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v.19, n.10, p.3249-3253, 2008.
- MINAGI, S.; MIYAKE, Y.; INAGAKI, K.; TSURU, H.; SUGINAKA, H. Hydrophobic interaction in Candida albicans and Candida tropicalis adherence to various denture base resin materials. **Infect. Immun.**, v.47, n.1, p.11-14, 1985.
- MOMBELLI, A.; DÉCAILLET, F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. **J. Clin. Periodontol.** v.38, n.11, p.203-13, 2011.
- MOMBELLI, A.; MULLER, N.; CIONCA, N. The epidemiology of peri-implantitis. **Clin. Oral Implants Res.**, v.23, p.67–76, 2012.
- MYAZAKI, T.; NAKAMURA, H.; BAN, S.; KOBAYASHI, T. Current status of zirconia restoration. **J. Prosthodont. Res.**, v.57, p.236-261, 2013.
- NAKAMURA, T.; WAKABAYASHI, K.; KAWAMURA, Y.; KINUTA, S.; MUTOBE, Y.; YATANI, H. Analysis of internal defects in all-ceramic crowns using micro-focus X-ray computed tomography. **Dental Mater. J.**, v.26, n.4, p.598-601, 2007.
- PASSOS, S.P.; LINKE, B.; LARJAVA, H., FRENCH, D. Performance of zirconia abutments for implant-supported single-tooth crowns in esthetic areas: a retrospective study up to 12-year follow-up. **Clin. Oral Implants Res.**, v.27, p.1-8, 2014.
- PEREIRA, G.K.R., FRAGA, S., MONTAGNER, A.F., SOARES, F.Z.M., KLEVERLAAN, C.J., VALANDRO, L.F. The effect of grinding on the mechanical behavior of Y-TZP ceramics: a systematic review and meta-analyses. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v.63, p.417–442, 2016.

- PIEGER, S.; SALMAN, A.; BIDRA, A.S. Clinical outcomes of lithium disilicate single crowns and partial fixed dental prostheses: a systematic review. **J. Prosthet. Dent.**, v.112, p.22-30, 2014.
- POOLE, S.F.; PEREIRA, G.K.R.; MORIS, I.C.M.; MARQUES, A.G.; RIBEIRO, R.F.; GOMES, E.A. Physical properties of conventional and monolithic yttria-zirconia materials after low-temperature degradation. **Ceram. Int.** v.45, n.16, p.21038-21043, 2019.
- PREIS, V., WEISER, F., HANDEL, G., ROSENTRITT, M. Wear performance of monolithic dental ceramics with different surface treatments. **Quintessence Int.** v.44, n.5, p.393-405, 2013.
- QUIRYNEN, M.; BOLLEN, C.M. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra-and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. **J. Clin. Period.**, v.22, p.1-14, 1995.
- QUIRYNEN, M.; BOLLEN, C.M.; PAPAIOANNOU, W.; VAN ELDERE, J.; VAN STEENBERGHE, D. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short term observations. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v.11, n.2, p.169-178, 1996.
- QUIRYNEN, M.; MARECHAL, M.; BUSSCHER, H.J.; WEERKAMP, A.H.; ARENDS, J.; DARIUS, P.L.; VAN STEENBERGHE, D. The Influence of Surface Free-energy on Planimetric Plaque Growth in Man. **J. Dent. Res.**, v.68, n.5, p.796-799, 1989.
- RAPTIS, N.V., MICHALAKIS, K.X., HIRAYAMA, H. Optical behavior of current ceramic systems. **Int. J. Period. Restorative Dent.**, v.26, p.31-41, 2006.
- RASHID, H. The effect of surface roughness on ceramics used in dentistry: A review of literature. **Eur. J. Dent.**, v.8, n.4, p.571-579, 2014.
- RITZBERGER, C.; APEL, E.; HÖLAND, W.; PESCHKE, A.; RHEINBERGER, V. M. Properties and Clinical Application of Three Types of Dental Glass-Ceramics and Ceramics for CAD-CAM Technologies. **Materials**, v.3, p.3700-3713, 2010.
- ROOS-JANSKERM, A.M.; LINDAHL, C.; RENVERT, H.; RENVERT, S. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: Presence of peri-implant lesions. **J. Clin. Period.**, v.33, p.290-295, 2006.
- SAILER, I.; FEHÉR, A.; FILSER, F.; GAUCKLER, L.J.; LÜTHY, H.; HÄMMERLE, C.H. Five-year clinical results of zirconia frameworks for posterior fixed partial dentures. **Int. J. Prosthodont.**, v.20, p.383-388, 2007.
- SCHMITTER, M.; LOTZE, G.; BOMICKE, W.; RUES, S. Influence of surface treatment on the in-vitro fracture resistance of zirconia-based all-ceramic anterior crowns. **Dent. Mater.** v.12, p. 1552-1560. 2015.
- SHARMA, P.; HANUMANTHA, K. Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v.98, n.5, p.341-463, 2002.
- SHIRTCLIFFE, N.J.; MCHALE, G.; ATHERTON, S.; NEWTON, M.I. An introduction to superhydrophobicity. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v.15, n.161, p.124-138, 2010.
- SIQUEIRA, C.B.; FARIA, N. S.; RAUCCI-NETO, W.; COLUCCI, V.; GOMES, E.A. Evaluation of Mechanical Properties of Glass Fiber Posts Subjected to Laser Surface Treatments. **Photomed. Laser Surg.**, v.34, n.10, p.460-466, 2016.

- STUDART, A.R.; FILSER, F.; KOCHER, P.; GAUCKLER, L.J. In vitro lifetime of dental ceramics under cyclic loading in water. **Biomaterials**, v.28, p.2695–2705, 2007.
- SUBRAMANI, K.; JUNG, R.E.; MOLENBERG, A.; HAMMERLE, C.H. Biofilm on dental implants: a review of the literature. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants** v.24, n.4, p.616-626, 2009.
- SUNDH, A.; SJÖGREN, G. A study of the bending resistance of implant-supported reinforced alumina and machined zirconia abutments and copies. **Dent. Mater.**, v.24, p.611-617, 2008.
- TAMURA, N.; OCHI, M.; MIYAKAWA, H.; NAKAZAWA, F. Analysis of bacterial flora associated with peri-implantitis using obligate anaerobic culture technique and 16S rDNA gene sequence. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v.28, p.1521-1529, 2013.
- TAWAKOLI, P.N.; ATTIN, T.; MOHN, D. Oral biofilm and caries-infiltrant interactions on enamel. **J. Dent.** V.48, p.40-45, 2016
- TETE, S.; ZIZZARI, V.L.; BORELLI, B.; DE COLLI, M.; ZARA, S.; SORRENTINO, R.; SCARANO, A.; GHERLONE, E.; CATALDI, A.; ZARONE, F. Proliferation and adhesion capability of human gingival fibroblasts onto zirconia, lithium disilicate and feldspathic veneering ceramic in vitro. **Dent. Mater. J.**, v.33, n.1, p.7-15, 2014.
- TOMAN, M.; TOKSAVUL, S. Clinical evaluation of 121 lithium disilicate all-ceramic crowns up to 9 years. **Quintessence Int.**, v.46, p.189–197, 2018.
- VITA SUPRINITY, Technical and scientific documentation, Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Germany, 2014.
- VO, T.D.; AROLA, D.; ROMBERG, E.; DRISCOLL, C.F.; JABRA-RIZK, M.A.; MASRI, R. Adherence of *Streptococcus mutans* on lithium disilicate porcelain specimens. **J. Prosthet. Dent.**, v.114, p. 696-701, 2015.
- YOSHIDA, F.; TSUJIMOTO, A.; ISHII, R.; NOJIRI, K.; TAKAMIZAWA, T.; MIYAZAKI, M.; LATTA, M.A. Influence of surface treatment of contaminated lithium disilicate and leucite glass ceramics on surface free energy and bond strength of universal adhesives. **Dental Mater. J.**, v.34, n.6, p.855-862, 2015.
- ZARONE, F.; RUSSO, S.; SORRENTINO, R. From porcelain-fused-to- metal to zirconia: clinical and experimental considerations. **Dent. Mater.**, v. 27, p.83-96, 2011.
- ZHANG, Y.F.; ZHENG, J.; ZHENG, L.; ZHOU, Z.R. Effect of adsorption time on the adhesion strength between salivary pellicle and human tooth enamel. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v.42, p.257-66, 2015.
- ZIZZARI, V.; BORELLI, B.; DE COLLI, M.; TUMEDEI, M.; DI IORIO, D.; ZARA, S.; SORRENTINO, R.; CATALDI, A.; GHERLONE, E.F.; ZARONE, F.; TETE, S. SEM evaluation of human gingival fibroblasts growth onto CAD/CAM zirconia and veneering ceramic for zirconia. **Ann. Stomatol. (Roma)**, v.4, n.3, p.244-249, 2013.
- ZUCUNI, C.P.; DAPIEVE, K.S.; RIPPE, M.P.; PEREIRA, G.K.R.; BOTTINO, M.C.; VALANDRO, L.P. Influence of finishing/polishing on the fatigue strength, surface topography, and roughness of an yttrium-stabilized tetragonal zirconia polycrystals subjected to grinding. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v.93, p.222-229, 2019.

ZUCUNI, C.P.; GUILARDI, L.F.; RIPPE, M.P.; PEREIRA, G.K.R.; VALANDRO, L.F. Fatigue strength of yttria-stabilized zirconia polycrystals: Effects of grinding, polishing, glazing, and heat treatment. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v.75, p.512-520, 2017.