

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

LÍVIA MAIUMI UEHARA

Influência da incorporação do nanomaterial β -AgVO₃ nas propriedades mecânicas e microbiológicas das cerâmicas odontológicas

ORIENTADOR: PROF(A). DR(A). ANDRÉA CÂNDIDO DOS REIS

RIBEIRÃO PRETO

2023

LÍVIA MAIUMI UEHARA

Influência da incorporação do nanomaterial β -AgVO₃ nas propriedades mecânicas e microbiológicas das cerâmicas odontológicas

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Cirurgião (ã) - Dentista.

ORIENTADOR: PROF(A). DR(A). ANDRÉA CÂNDIDO DOS REIS

RIBEIRÃO PRETO

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me presenteou com a vida e, ao longo dela, me ensinou a usar o dom da fortaleza, para assumir, com coragem e paciência, as lutas necessárias para trilhar um caminho de sabedoria, bondade e inteligência.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, renomada Instituição que fez, de suas dependências, um lar para os seus alunos, além de me permitir criar asas para um futuro promissor e me preparar como uma profissional mais humanizada e segura.

À minha querida orientadora Andréa Cândido dos Reis, mulher forte, guerreira e, acima de tudo, profissional impecável, que soube me ensinar até mesmo nas entrelinhas de suas ações.

À minha família, meu grande porto seguro, que, em meio às turbulências da vida, é capaz de me trazer paz, tranquilidade e confiança. Em especial, aos meus pais, Érika Villani Uehara e Silvio Yabagata Uehara, pessoas de exímia coragem e de dedicação admirável, às minhas irmãs, Laís Tiemi Uehara e Milena Naomi Uehara, mulheres de força sublime e ao meu namorado, Felipe Henrique Corrêa, homem de perseverança grandiosa.

Por fim, aos meus amigos e companheiros de jornada, em especial, Nicole Ranzani Bernal, Marcos Miguel Ito e Thiago Miura Inácio, profissionais excepcionais e pessoas inesquecíveis, que construíram, ao meu lado, memórias magníficas.

O sentimento de gratidão nunca será suficiente para transmitir tamanho significado de me despedir dos anos mais espetaculares de minha vida.

RESUMO

UEHARA, Livia Maiumi. **Influência da incorporação do nanomaterial β -AgVO₃ nas propriedades mecânicas e microbiológicas das cerâmicas odontológicas.** 2023. 29 Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

O avanço tecnológico, na área de nanotecnologia, permitiu o desenvolvimento de nanomateriais que podem exibir propriedades antibacterianas e que reduzem a resistência destes microrganismos. O presente estudo tem por objetivo explorar o efeito da adição de diferentes porcentagens de vanadato de prata nanoestruturado decorado com nanopartículas de prata (β -AgVO₃) às cerâmicas odontológicas, avaliando sua atividade antimicrobiana e sua influência nas propriedades mecânicas dos materiais cerâmicos. Foram confeccionados 36 corpos de prova conforme a norma ISO 6872, para cada concentração, grupo controle (0%), 0,5%, 1%, 2,5% e 5%, com a utilização de duas marcas comerciais: IPS InLine e Noritake Cerabien ZR. Para a análise das propriedades mecânicas, realizou-se o teste de microdureza de Vickers (n=10) e o teste de rugosidade com microscópio confocal à laser (n=10). Para a análise antimicrobiana, realizou o ensaio de XTT (n=36) e de UFC (n=36). Os dados obtidos nos testes mecânicos e na análise microbiológica foram submetidos à análise estatística com a análise paramétrica ANOVA e pós-teste de Tukey ($\alpha=0,05$) e análise não-paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$), respectivamente. A análise dos resultados mostrou que a incorporação do nanomaterial influenciou na microdureza e na rugosidade dos corpos de prova. Em relação à microdureza da cerâmica Noritake Cerabien ZR, o grupo 2,5% apresentou maior média em relação ao controle, enquanto que, para a cerâmica IPS InLine, o grupo 1% apresentou maior média em relação ao controle. Quanto à rugosidade da cerâmica Noritake Cerabien ZR, os grupos 2,5% e 5% apresentaram maior média em relação ao controle, entretanto, nos testes da cerâmica IPS InLine, não foi verificada diferença estatística. Para o ensaio de XTT da marca IPS InLine, não foram verificadas diferenças significativas entre as concentrações para o microrganismo *S. mutans* (p=0,311); para *S. sobrinus*, o grupo controle foi estatisticamente diferente dos demais (p<0,05); para *P. aeruginosa*, o grupo de 2,5% apresentou os menores valores para XTT (p<0,05); para *A.a.*, os grupos controle e de 5% apresentaram os menores valores, semelhantes entre si (p>0,05). Para o ensaio de XTT da marca Noritake Cerabien ZR, os grupos controle e de 1%, testados para *S. mutans*, mostraram diferença significativa (p=0,012); para *S. sobrinus* e *A.a.* a concentração de 2,5%

proporcionou o menor valor de XTT; para *P. aeruginosa*, o grupo de 1% apresentou o menor valor de XTT. Para o ensaio de UFC da marca IPS InLine, verificou-se diferenças significativas para *S. mutans*, entre os grupos controle, 0,5%, 2,5% e 5% ($p < 0,05$); Para *P. aeruginosa*, houve diferença entre os grupos de 0,5% e 5% ($p < 0,05$); para *S. sobrinus* ($p = 0,129$) e *A.a.* ($p = 0,846$), não foram observadas diferenças significativas. Para o ensaio de UFC da marca Noritake Cerabien ZR, não foram observadas diferenças significativas entre as diferentes concentrações de $\beta\text{-AgVO}_3$ em todos os microrganismos avaliados ($p > 0,05$). Portanto, pode-se concluir que a modificação das cerâmicas odontológicas, com a incorporação de $\beta\text{-AgVO}_3$, influenciou nas propriedades mecânicas do material e demonstrou atividade antimicrobiana em determinadas concentrações.

Palavras-chave: Cerâmicas odontológicas. Propriedades mecânicas. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

UEHARA, Livia Maiumi. **Influence of β -AgVO₃ nanomaterial incorporation on mechanical and microbiological properties of dental porcelain.** 2023. 29 Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Technological advances in the area of nanotechnology have allowed the development of nanomaterials that can exhibit antibacterial properties and produce resistance to these microorganisms. The present study aims to explore the effect of adding different percentages of nanostructured silver vanadate decorated with silver nanoparticles (β -AgVO₃) to dental ceramics, evaluating its antimicrobial activity and its influence on the mechanical properties of ceramic materials. 36 specimens were prepared according to ISO 6872, for each concentration, control group (0%), 0.5%, 1%, 2.5% and 5%, using two commercial brands: IPS InLine and Noritake Cerabien ZR. For the analysis of the mechanical properties, the Vickers microhardness test (n=10) and the roughness test with confocal laser microscope (n=10) were performed. For the antimicrobial analysis, the XTT (n=36) and CFU (n=36) tests were performed. The data obtained in the mechanical tests and in the microbiological analysis were approved for statistical analysis with ANOVA parametric analysis and Tukey's post-test ($\alpha=0.05$) and non-parametric Kruskal-Wallis analysis ($\alpha=0.05$), respectively. The analysis of the results showed that the incorporation of the nanomaterial influenced the microhardness and roughness of the specimens. Regarding the microhardness of the Noritake Cerabien ZR ceramic, the 2.5% group presented a higher average in relation to the control, whereas, for the IPS InLine ceramic, the 1% group presented a higher average in relation to the control. As for the roughness of the Noritake Cerabien ZR ceramic, the 2.5% and 5% groups showed a higher average in relation to the control, however, in the tests of the IPS InLine ceramic, the statistical difference was not verified. For the IPS InLine brand XTT assay, there were no differences between concentrations for the microorganism *S. mutans* ($p=0.311$); for *S. sobrinus*, the control group was statistically different from the others ($p<0.05$); for *P. aeruginosa*, the 2.5% group had the lowest values for XTT ($p<0.05$); for *A.a.*, the control and 5% groups had the lowest values, similar to each other ($p>0.05$). For the Noritake Cerabien ZR XTT assay, the control and 1% groups tested for *S. mutans* found a significant difference ($p=0.012$); for *S. sobrinus* and *A.a.* the concentration of 2.5% provided the lowest XTT value; for *P. aeruginosa*, the 1% group had the lowest XTT value. For the IPS InLine brand CFU

assay, there were significant differences for *S. mutans* between the control groups, 0.5%, 2.5% and 5% ($p < 0.05$); For *P. aeruginosa*, there was a difference between the groups of 0.5% and 5% ($p < 0.05$); for *S. sobrinus* ($p = 0.129$) and *A.a.* ($p = 0.846$), no significant differences were observed. For the CFU assay of the Noritake Cerabien ZR brand, no significant differences were observed between the different concentrations of β -AgVO₃ in all microorganisms evaluated ($p > 0.05$). Therefore, it can be concluded that the modification of dental ceramics, with the incorporation of β -AgVO₃, influenced the mechanical properties of the material and demonstrated antimicrobial activity at certain concentrations.

Keywords: Dental porcelains. Mechanical properties. Antimicrobial activity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1 <i>Objetivos gerais</i>	12
2.2 <i>Objetivos específicos</i>	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1 <i>Síntese do vanadato de prata nanoestruturado decorado com AgNPs</i>	13
3.2 <i>Processamento da cerâmica contendo β-AgVO₃ decorado com AgNPs</i>	13
3.3 <i>Análise das propriedades mecânicas</i>	14
3.4 <i>Avaliação da atividade antimicrobiana</i>	15
4. RESULTADOS.....	18
4.1 <i>Análise das propriedades mecânicas</i>	18
4.2 <i>Análise das propriedades antimicrobianas</i>	19
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÕES FINAIS.....	26
7. REFERÊNCIAS.....	27

1. INTRODUÇÃO

A cárie dental é uma doença complexa e multifatorial, caracterizada pela desmineralização de tecidos dentários, devido à ação de ácidos produzidos por biofilme multiespecífico, por meio da degradação de carboidratos fermentáveis. Este processo desencadeia a diminuição do pH, na superfície do dente, e resulta na perda da estrutura mineral dentária.¹

Em casos de perda de tecido dental, as cerâmicas odontológicas têm sido amplamente utilizadas como material de escolha em reabilitações orais, devido as suas propriedades estéticas e biocompatibilidade.² Sua aplicação clínica consagrou-se por apresentar várias propriedades desejáveis de forma semelhante aos dentes naturais, dentre as quais se destacam: translucidez, fluorescência, estabilidade química, coeficiente de expansão térmica linear próxima ao da estrutura dentária, assim como a maior resistência à compressão e à abrasão.³

O desenvolvimento de cáries, doenças periodontais e mucosites, devido à formação de biofilmes em superfícies de próteses dentárias, tem sido relatada.⁴ Além de colonizar a cavidade bucal, os microrganismos podem desencadear doenças sistêmicas, principalmente em pacientes imunocomprometidos e idosos, como a endocardite infecciosa e a pneumonia por aspiração, que consistem em importantes causas de morbidade e mortalidade.⁵ Esses fatores limitam a longevidade do tratamento reabilitador e reduzem a qualidade de vida dos pacientes, além de gerar custos adicionais.⁶ O intuito de pesquisas, na área de materiais dentários, é a busca por restaurações de longo prazo, uma vez que, podem reduzir o custo da reposição da restauração, bem como, o inconveniente causado ao paciente como resultado das inúmeras reintervenções.¹

O surgimento de microrganismos patogênicos resistentes a antibióticos levou à busca de novos agentes antimicrobianos. A expansão da nanotecnologia permitiu a sintetização de diferentes tipos de nanomateriais, como zinco, titânio, cobre e prata. Íons metálicos penetram em bactérias e inativam suas enzimas ou geram peróxido de hidrogênio, causando morte bacteriana. Assim, embora algumas bactérias tenham se tornado resistentes aos antibióticos, são menos propensas a desenvolver resistência contra nanopartículas metálicas,⁷ principalmente as nanopartículas de prata (AgNPs).⁸

Os nanomateriais, de uma maneira geral, dentre eles as AgNPs, são termodinamicamente instáveis e apresentam uma tendência natural de se aglomerarem. Manter a homogeneidade de tamanho e forma, além de elevada dispersão, prevenindo a aglomeração, é um grande desafio. A aplicação prática das AgNPs como aditivos está

limitada, de certa forma, devido à dificuldade de se obter nanopartículas livres e agentes estabilizantes.⁹

Dessa forma, foi desenvolvida uma maneira de estabilizar essas substâncias associando-as a nanofios de vanadato, formando vanadato de prata nanoestruturado decorado com AgNPs (β -AgVO₃).¹⁰ Esse material revelou uma eficiente atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus* e, tem atraído grande interesse na odontologia.¹¹

Um dos principais requisitos em microbiologia é quantificar microrganismos de forma rápida e confiável.¹² Ao longo de vários anos, uma ampla variedade de modelos tem sido descrita, para uso *in vitro*, da formação e desenvolvimento de biofilme, no entanto, cada método apresenta suas limitações.²

O XTT é um método que se baseia na atividade metabólica de células vivas¹³ por meio da redução intracelular do sal, formando um composto denominado formazan que pode ser quantificado pela alteração de cor, permitindo uma boa avaliação da concentração, à qual o agente antimicrobiano deixou de ser efetivo, e pode ser visualizada por inspeção visual ou medida por espectrofotometria, um método de análises óptico comumente usado nas investigações biológicas e físico-químicas, que utiliza a interação da luz com a matéria.¹⁴ A absorbância do sobrenadante das células é proporcional ao número de células microbianas metabolicamente ativas.

O procedimento mais comumente usado para mensurar a formação de biofilme é a contagem de viabilidade em placas de Petri, ou seja, a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC).¹³ A vantagem da técnica é o fato de que células inviáveis, fragmentos de células mortas e material difundido no meio de cultura, não interferem na obtenção dos resultados. É possível estabelecer comparações do padrão de crescimento sob diferentes condições ambientais e populações microbianas e permite uma estimativa do número de células viáveis por mL da população.¹²

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O presente estudo visa analisar o efeito da incorporação de diferentes porcentagens do nanomaterial β -AgVO₃ às cerâmicas odontológicas, avaliando sua influência nas propriedades mecânicas de rugosidade e de microdureza superficiais. Além disso, esta pesquisa também objetiva analisar a capacidade antimicrobiana dos materiais cerâmicos modificados.

2.2 Objetivos específicos

- A. Avaliar a rugosidade superficial, dos cinco grupos, por meio de microscopia confocal a laser;
- B. Avaliar a microdureza superficial, dos cinco grupos, com o auxílio de um microdurômetro e da microscopia óptica;
- C. Avaliar a capacidade antimicrobiana, dos cinco grupos, por meio dos métodos de XTT e UFC.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Síntese do vanadato de prata nanoestruturado decorado com AgNPs

A síntese deste material foi realizada por meio de uma reação de precipitação de nitrato de prata (Merck 99,8%) e amônio metavanadato (NH_4VO_3 , Merck 99%). Inicialmente, 1 mol de NH_4VO_3 foi solubilizado em 35 mL de água destilada a 80 °C, sob agitação magnética, durante 15 minutos. Em seguida, foram adicionados 2 mols de AgNO_3 , gota a gota em 35 mL de água destilada, que agitados durante 30 minutos formaram a solução de vanadato de amônia. O precipitado obtido foi centrifugado, lavado com água destilada e etanol absoluto e secado sob condições de vácuo durante 10 horas.^{15,16}

3.2 Processamento da cerâmica contendo $\beta\text{-AgVO}_3$ decorado com AgNPs

Para este estudo, foram utilizadas duas cerâmicas odontológicas comerciais: IPS InLine (Ivoclar Vivadent AG) e Noritake Cerabien ZR (Noritake Dental Supply Co. Ltd, Nagoya, Japan).

As amostras utilizadas para os ensaios microbiológicos (n=36) foram confeccionadas utilizando-se uma matriz cilíndrica de teflon com espaçador de acrílico, nas dimensões de 6x2mm.

Os corpos de prova para os ensaios mecânicos (n=10) foram confeccionados conforme a norma ISO 6872, com dimensões finais de 6x2mm (diâmetro x espessura). Inicialmente, foram usinados perfis em acetato de 6x2mm (diâmetro x espessura), para posterior moldagem com silicone. Os perfis foram fixados em placa de vidro com material adesivo à base de éster de cianoacrilato (Super Bonder/Loctite Henkel Ltda., Brasil). O silicone foi vertido na forma fixada na placa e mantido em repouso até a polimerização. O conjunto foi removido da placa, ficando moldados no silicone, os negativos dos perfis de acetato. As duas cerâmicas foram preparadas conforme especificações dos fabricantes.

Para os grupos controle, as cerâmicas foram manipuladas conforme as instruções do fabricante. Para os grupos incorporados com nanomaterial, estes foram preparados por meio das misturas das porcentagens de 0,5%, 1%, 2,5% e 5% de $\beta\text{-AgVO}_3$ que foram acrescidos proporcionalmente em massa ao pó das cerâmicas. Em seguida, foram manipulados conforme as instruções do fabricante, e depositados na matriz para conformação nas dimensões descritas.

As porcentagens de 0,5%, 1%, 2,5% e 5% de β -AgVO₃ correspondem a concentração de agente que é incorporado a massa de pó de cerâmica. Considerando, por exemplo, que serão utilizados 100g de massa de cerâmica para a confecção de corpos de prova, nos grupos com 2,5% de nanomaterial incorporado, 97,5g é pó de cerâmica, onde são acrescidos 2,5g de vanadato de prata.

O pó da porcelana foi misturado com líquido próprio de cada marca comercial seguindo as orientações dos fabricantes sobre uma placa de vidro, até se obter uma massa cerâmica de consistência cremosa, que foi aplicada em incrementos no interior das matrizes com auxílio de espátula, imitando a técnica laboratorial convencionalmente empregada para a confecção de uma restauração cerâmica. Após a colocação de cada incremento, foi realizada uma pequena vibração para afloramento do excesso de líquido, que foi removido com auxílio de papel absorvente. Isso tem resultado em uma menor inclusão de bolhas de ar na massa e uma menor contração de queima da porcelana.

Após o preenchimento das matrizes, a cerâmica foi removida desta e seguiu para o processamento em forno. Os ciclos de sinterização foram realizados em forno para cerâmica, em ambiente à vácuo, conforme as especificações dos fabricantes.

Terminado o ciclo, foi realizado o polimento dos corpos de prova utilizando-se lixas nas granulações 80,400,600 e 1200 para aplainamento da superfície, seguida de disco branco para polimento de cerâmica (Cerapol). Após obtenção de superfícies planas e lisas, as amostras receberam glazeamento conforme o indicado pelo fabricante, sendo levadas novamente para o forno.

3.3 Análise das propriedades mecânicas

Foram realizados dois ensaios mecânicos para avaliar o desempenho do material: análise da microdureza e rugosidade superficial nos 10 corpos de prova confeccionados para cada grupo estudado.

A. Microdureza

O ensaio de microdureza Vickers visa estudar as durezas mecânicas das cerâmicas sinterizadas. A metodologia seguiu a norma ASTM C1327-08, que fornece o método de teste padrão para a obtenção da dureza Vickers de cerâmicas. A leitura da microdureza de Vickers (n=10) foi realizada em um Microdurômetro (Shimadzu HMV-2, Japão), com carga de 2Kgf,

durante 30 segundos. Foram realizadas 3 leituras em cada corpo de prova, sendo em 3 regiões distintas. As impressões foram realizadas de forma que a distância entre os centros das impressões seja de quatro vezes a diagonal da indentação. Após a medição das diagonais de impressão, foram calculados os valores da Dureza Vickers do material, conforme a equação abaixo:

$$HV = 1,8544 \times P / d^2$$

Onde HV= Dureza Vickers (GPa); P= carga aplicada (N); d= média aritmética do comprimento das duas diagonais (mm).

B. Rugosidade

Esta análise (n=10) foi feita por meio do moderno rugosímetro Lext OLS 4000, um microscópio confocal a laser que pode obter imagens 3D de alta resolução por meio da aquisição de imagens sucessivas da amostra entre duas alturas. O software recombina as imagens a laser adquiridas, para produzir uma projeção em 3D que pode ser medida. A manipulação do corpo de prova no rugosímetro é semelhante a um microscópio convencional. Coloca-se o corpo de prova na mesa do microscópio, seleciona a objetiva e ajusta-se o foco manualmente. Neste estudo, a aquisição das imagens foi realizada a partir da objetiva de menor aumento (5x). Foi realizada uma marcação com um bisturi na borda do corpo de prova, sentido longo eixo, para tornar possível o posicionamento do foco da lente em uma única região do corpo de prova a ser analisado. A partir da marcação, que pode ser observada na tela de um computador, com o mouse deve-se arrastar a lente em 2500um na superfície do corpo, da esquerda para a direita, para que o laser atinja a região central do corpo de prova. Foram realizadas 3 medidas por corpo de prova de acordo com os parâmetros de rugosidade média Ra e Rz.

Os dados obtidos após a realização das metodologias propostas acima foram submetidos à análise estatística no software SPSS 20.0, com análise paramétrica ANOVA e pós-teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

A. Esterilização

Os corpos de prova utilizados para os ensaios microbiológicos foram acondicionados em envelopes especiais com uma face de plástico (Envelope Grau Cirúrgico Termo – selável, Sispack, SP, Brasil) e esterilizados por meio de óxido de etileno na ACECIL – Central de Esterilização Comércio e Indústria Lda – Campinas.

B. Meios de Cultura Utilizados

Foram utilizados os meios de cultura: Ágar Brain Heart Infusion (BHI) para a preparação do inóculo microbiano e contaminação dos espécimes com *S. mutans* e *S.sobrinus*; Ágar Cetrimide para a preparação do inóculo microbiano e contaminação dos corpos de prova com *P. aeruginosa*; Agar Sangue para a preparação do inóculo microbiano e contaminação dos corpos de prova com *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a.*). Os meios de cultura foram preparados segundo instruções do fabricante.

Os ensaios de XTT e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) foram realizados frente a todas as concentrações (controle, 0,5%, 1%, 2,5% e 5% de β -AgVO₃). Para cada concentração, foram obtidos n=9 corpos de prova para cada cerâmica frente a cada microrganismo.

C. Ensaio de XTT

A viabilidade do biofilme foi avaliada pelo ensaio de redução de XTT. Para o ensaio, foi utilizado o XTT Cell Viability Assay Kit (Uniscience, São Paulo, Brasil), este kit é composto pela solução XTT e pelo reagente de ativação.

Alíquotas de 100 μ L da suspensão homogeneizada de cada tubo e 50 μ L da solução de XTT [2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolio-5-carboxanilida] foram transferidas para cada poço da placa de 96 poços. As placas foram incubadas no escuro, a 37°C, durante 24 horas, para posterior quantificação da formação de formazan por espectrofotometria a 492 nm, utilizando um leitor de microplacas (Synergy II, BioTek Instruments, Winooski, VT, Estados Unidos).

D. Unidades Formadoras de Colônias

O número de células viáveis foi quantificado em termos de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). Para a realização da semeadura dos meios de cultura

específicos em placa de Petri, para cada microrganismo, a solução contida nos tubos de ensaio foi diluída de forma seriada. Para isso, os tubos foram individualmente agitados em agitador de tubos de ensaio (Phoenix, AP 56, Araraquara, São Paulo, Brasil), uma alíquota de 25 µL da solução foi utilizada sem diluição e posteriormente, uma alíquota de 25 µL foi transferida para um eppendorf contendo 250 µL de solução salina à 0,85%, para obter assim diluições seriadas de 10⁰ a 10⁻³.

Uma alíquota de 25 µL de cada diluição foi transferida à placa de Petri nos respectivos quadrantes e espalhada sobre o meio de cultura com o auxílio de uma alça Drigalsky. Em seguida, as placas foram incubadas à 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica. A incubação do *S. mutans* foi em microaerofilia. Após o período de incubação, foi realizada a contagem e registro do número de UFC. Para o cálculo foi considerado a diluição em que o número de UFC varie entre 30 a 300 colônias e foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{UFC/10 mL} = (\text{número de colônias} \times 10^n/q) \times 10$$

Onde, n equivale ao valor absoluto da diluição, e q equivale à quantidade em mL, pipetada para cada diluição quando nas sementeiras das placas. No presente estudo, q=0,025 já que foram 25 µL para cada diluição.

Os dados obtidos após a realização das metodologias propostas acima foram submetidos à análise estatística no software SPSS 20.0, com análise não-paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Análise das propriedades mecânicas

Os dados apresentaram distribuição normal.

A. Microdureza

Microdureza	Média \pm desvio-padrão
Noritake Cerabien ZR	
Grupo controle	663,7 \pm 69,6
Grupo 0,5%	738,7 \pm 47,1
Grupo 1,0%	755,4 \pm 137,2
Grupo 2,5%	796,9 \pm 108,5
Grupo 5,0%	749,3 \pm 55,8
IPS InLine	
Grupo controle	700,5 \pm 35,0
Grupo 0,5%	791,3 \pm 74,4
Grupo 1,0%	804,6 \pm 99,4
Grupo 2,5%	710,8 \pm 56,2
Grupo 5,0%	755,7 \pm 110,5

Tabela 1: Média e desvio padrão dos dados de microdureza obtidos.

Para os grupos da cerâmica Noritake Cerabien ZR, verificou-se diferença significativa entre as concentrações ($p=0,033$), em que, 2,5% apresentou maior média (796,9 \pm 108,5) em relação ao controle (663,7 \pm 69,6) ($p=0,016$).

Para os grupos da cerâmica IPS InLine, verificou-se diferença significativa entre as concentrações ($p=0,009$), em que, 1,0% apresentou maior média (804,6 \pm 99,4) em relação ao controle (700,5 \pm 35,0) ($p=0,025$).

Quando as duas marcas foram comparadas entre si, a diferença significativa foi observada apenas na concentração de 2,5%, em que, a Noritake Cerabien ZR apresentou maior média (796,9 \pm 108,5) em relação a IPS InLine (710,8 \pm 56,2) ($p=0,039$).

B. Rugosidade

Rugosidade	Média \pm desvio-padrão
Noritake Cerabien ZR	
Grupo controle	1,5 \pm 0,3
Grupo 0,5%	2,2 \pm 0,4
Grupo 1,0%	2,6 \pm 1,0
Grupo 2,5%	2,8 \pm 1,1

Grupo 5,0%	3,9±1,5
IPS InLine	
Grupo controle	3,0±1,8
Grupo 0,5%	2,4±0,6
Grupo 1,0%	2,2±0,4
Grupo 2,5%	3,1±0,8
Grupo 5,0%	3,1±0,6

Tabela 2: Média e desvio padrão dos dados de rugosidade obtidos.

Para os grupos da cerâmica Noritake Cerabien ZR, verificou-se diferença significativa entre as concentrações ($p < 0,001$), em que, 2,5% e 5% apresentaram maiores médias ($2,83 \pm 1,18$ e $3,90 \pm 1,51$) em relação ao controle ($1,52 \pm 0,34$) ($p = 0,044$ e $p < 0,001$, respectivamente). Além disso, as concentrações 0,5% ($2,26 \pm 0,49$) e 5% ($3,90 \pm 1,51$) também apresentaram diferença ($p = 0,007$).

Para os grupos da cerâmica IPS InLine, não foi verificada diferença significativa entre as concentrações ($p = 0,219$).

Quando as duas marcas foram comparadas entre si, a diferença significativa foi observada apenas para o controle, em que, IPS InLine ($3,03 \pm 1,88$) apresentou maior média em relação a Noritake Cerabien ZR ($1,52 \pm 0,34$) ($p = 0,022$).

4.2 Análise das propriedades antimicrobianas

Os dados de UFC e XTT para as cerâmicas IPS e Noritake não apresentaram distribuição normal verificada pelo teste de Shapiro-Wilk.

A. Ensaio de XTT

Marca IPS InLine

Com relação às diferentes concentrações de $\beta\text{-AgVO}_3$, não foram verificadas diferenças significativas para *S. mutans* ($p = 0,311$). Em relação ao *S. sobrinus*, o grupo controle foi estatisticamente diferente dos demais ($p < 0,05$). Para *P. aeruginosa*, o grupo de 2,5% apresentou os menores valores para XTT, significativamente diferentes dos demais ($p < 0,05$). Por fim, para *A.a.*, os grupos controle e de 5% apresentaram os menores valores, semelhantes entre si ($p > 0,05$) e diferente dos demais ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Na comparação entre todos os microrganismos, dentro do grupo controle, o maior valor foi observado para *P. aeruginosa*, sendo, este valor, estatisticamente diferente dos demais ($p < 0,05$). Nos grupos de 0,5%, 1% e 2,5%, a bactéria *A.a.* apresentou o maior valor de

XTT, sendo semelhante, apenas, ao *S. sobrinus* ($p>0,05$), no grupo de 1%. No grupo com incorporação de 5% não foi observada diferença significativa entre os microrganismos

	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A.a.</i>
Controle	-0,20 [-0,37;-0,02] ^{Aa}	-0,05 [-0,05;-0,42] ^{Ab}	0,10 [0,03;0,12] ^{ABc}	-0,50 [-0,50;-0,04] ^{Ab}
0,5%	-0,21 [-0,34;-0,02] ^{Aa}	0,18 [0,10;0,34] ^{Bb}	0,17 [0,08;0,31] ^{Ab}	0,53 [0,38;0,58] ^{Bc}
1%	-0,32 [-0,45;-0,06] ^{Aa}	0,21 [0,11;0,46] ^{Bbc}	0,09 [-0,002;0,27] ^{ABb}	0,50 [0,33;0,57] ^{Bc}
2,5%	-,034 [-0,58;-0,14] ^{Aa}	0,02 [-0,02;0,38] ^{Bb}	-0,04 [-0,056;-0,007] ^{Cc}	0,52 [0,48;0,62] ^{Bd}
5%	-0,18 [-0,26;0,02] ^{Aa}	0,03 [-0,05;0,24] ^{Ba}	0,01 [-0,005;0,082] ^{Ba}	-0,04 [-0,10;0,28] ^{Aa}

($p=0,148$) (Tabela 3).

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as concentrações; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os microrganismos ($p<0,05$; Kruskal-Wallis, stepwise).

Tabela 3: Mediana e intervalo de confiança do XTT para a cerâmica IPS InLine.

Marca Noritake Cerabien ZR

Comparando-se as diferentes concentrações de β -AgVO₃, para *S. mutans*, em seus grupos controle e de 1%, houve diferença significativa ($p=0,012$). Para *S. sobrinus* e *A.a.* a concentração de 2,5% proporcionou o menor valor de XTT, sendo diferente do controle ($p=0,001$; $p=0,046$, respectivamente), 0,5% ($p=0,002$; $p=0,004$, respectivamente) e 1% ($p=0,048$; $p=0,012$, respectivamente). Por fim, com relação à *P. aeruginosa*, o grupo de 1% apresentou o menor valor de XTT, diferente do 2,5% ($p=0,049$) e 5% ($p=0,005$) (Tabela 4).

Com relação à diferença entre todos os microrganismos, dentro do grupo controle, *S. mutans* apresentou o menor valor de XTT, diferente do *S. sobrinus* ($p=0,013$) e do *A.a.* ($p<0,001$). Nos grupos de 0,5% e 1%, *S. mutans* também apresentou menor valor de XTT, diferente do *S. sobrinus* ($p=0,017$; $p=0,008$, respectivamente) e do *A.a.* ($p<0,001$; $p<0,001$, respectivamente). Já no grupo de 2,5%, *P. aeruginosa* foi diferente do *S. mutans* ($p=0,007$) e *S. sobrinus* ($p=0,015$) e no grupo de 5%, *S. sobrinus* foi diferente de *A.a.* ($p=0,032$) (Tabela 4).

	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A.a.</i>
Controle	0,04 [-0,13;0,07] ^{Aa}	0,25 [0,15;0,39] ^{Ab}	0,06 [0,01;0,29] ^{ABab}	0,53 [0,26;0,63] ^{Ab}
0,5%	-0,23 [-0,33;-0,05] ^{ABa}	0,22 [0,12;0,36] ^{ABc}	0,15 [0,08;0,16] ^{ABab}	0,55 [0,51;0,57] ^{Ac}
1%	-0,34 [-0,60;-0,23] ^{Ba}	0,19 [0,02;0,34] ^{ABc}	-0,40 [-0,68;0,10] ^{Aab}	0,54 [0,48;0,57] ^{Ac}
2,5%	-0,25 [-0,39;0,026] ^{ABa}	-0,05 [-0,18;-0,03] ^{Ba}	0,21 [0,09;0,26] ^{Bb}	-0,04 [-0,07;0,30] ^{Bab}
5%	-0,34 [-0,48;0,31] ^{ABab}	0,05 [-0,07;0,14] ^{Aa}	0,22 [0,12;0,26] ^{ABab}	0,43 [0,27;0,52] ^{Ab}

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os microrganismos ($p<0,05$; Kruskal-Wallis).

Tabela 4: Mediana e intervalo de confiança do XTT para a cerâmica Noritake Cerabien ZR.

B. Ensaio de UFC

Marca IPS InLine

Com relação às diferentes concentrações de β -AgVO₃, verificou-se diferenças significativas para *S. mutans*, entre os grupos controle, 0,5%, 2,5% e 5% ($p < 0,05$). Para *P. aeruginosa*, houve diferença entre os grupos de 0,5% e 5% ($p < 0,05$). Por fim, com relação ao *S. sobrinus* ($p = 0,129$) e *A.a.* ($p = 0,846$), não foram observadas diferenças significativas (Tabela 5).

No grupo controle, o *A.a.* apresentou maior valor para UFC, semelhante à *P. aeruginosa* ($p > 0,05$) e estatisticamente diferente dos demais microrganismos ($p < 0,05$). No grupo com incorporação de 0,5% de β -AgVO₃, o menor valor de UFC foi observado para *S. mutans*, sendo semelhante ao *S. sobrinus* ($p > 0,05$) e estatisticamente diferente do *A.a.* e da *P. aeruginosa* ($p < 0,05$). Nos demais grupos, com incorporação de 1%, 2,5% e 5%, observou-se o mesmo padrão, em que *S. mutans* apresentou menor UFC ($p < 0,05$), e foi estatisticamente semelhante, apenas, ao *S. sobrinus* ($p > 0,05$).

	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A.a.</i>
Controle	6,26 [3,73;7,10] ^a	5,72 [2,94;7,18] ^{ab}	7,69 [7,07;8,07] ^{bc}	8,07 [7,62;8,32] ^c
0,5%	6,33 [4,98;7,48] ^a	6,55 [2,81;7,35] ^a	8,30 [7,52;8,39] ^b	7,86 [6,60;8,51] ^b
1%	4,71 [2,63;5,84] ^a	6,34 [3,43;7,24] ^{ab}	7,68 [6,57;8,01] ^{bc}	8,02 [7,61;8,33] ^c
2,5%	4,26 [2,36;5,79] ^a	5,24 [2,76;6,20] ^a	7,48 [6,42;7,94] ^b	8,01 [5,66;9,00] ^b
5%	1,60 [1,50;4,03] ^a	1,60 [1,42;3,91] ^a	6,82 [4,74;7,76] ^c	8,17 [6,55;8,79] ^b

A chave indica diferença significativa entre as concentrações para um mesmo microrganismo; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os microrganismos ($p < 0,05$; Kruskal-Wallis, stepwise).

Tabela 5: Mediana e intervalo de confiança do UFC para a cerâmica IPS.

Marca Noritake Cerabien ZR

Não foram observadas diferenças significativas entre as diferentes concentrações de β -AgVO₃ em todos os microrganismos avaliados ($p > 0,05$).

Na comparação entre todos os microrganismos, *S. sobrinus* e *A.a.* foram diferentes ($p = 0,004$) do grupo controle. Nos grupos com incorporação de 0,5% e de 1%, *S. sobrinus* apresentou os menores valores de UFC, estatisticamente diferentes da *P. aeruginosa* ($p = 0,022$; $p = 0,023$, respectivamente) e do *A.a.* ($p = 0,002$; $p = 0,001$, respectivamente). No grupo de 2,5%, diferença foi observada apenas entre *S. mutans* e *P. aeruginosa* ($p = 0,016$), já

nos grupos com 5% de incorporação, *S. mutans* foi diferente da *P. aeruginosa* ($p=0,029$) e do *A.a* ($p=0,07$) (Tabela 6).

	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A.a.</i>
Controle	6,75 [6,15;7,43] ^{ab}	5,58 [2,90;6,96] ^a	7,54 [7,07;8,11] ^{ab}	8,01 [7,45;8,27] ^b
0,5%	6,18 [3,57;6,69] ^a	5,15 [3,66;6,75] ^a	7,53 [7,19;8,27] ^b	8,12 [7,83;8,23] ^b
1%	6,42 [3,77;7,23] ^a	5,30 [2,78;6,67] ^a	7,72 [7,25;8,19] ^b	8,21 [7,54;8,46] ^b
2,5%	6,01 [3,16;7,35] ^a	5,49 [3,11;7,16] ^{ab}	7,71 [7,39;8,40] ^b	7,84 [4,36;8,68] ^{ab}
5%	1,60 [1,74;5,51] ^a	5,17 [2,76;6,89] ^{ab}	7,44 [5,45;8,65] ^b	7,66 [6,68;8,19] ^b

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os microrganismos ($p<0,05$; Kruskal-Wallis).

Tabela 6: Mediana e intervalo de confiança do UFC para a cerâmica Noritake Cerabien ZR.

5. DISCUSSÃO

As inovações da nanotecnologia estão sendo aplicadas, atualmente, no avanço e no aperfeiçoamento de materiais odontológicos.¹¹ E, em paralelo, a literatura já está otimista quanto à utilização do nanomaterial β -AgVO₃, na odontologia, frente a suas características de baixa toxicidade às células humanas e longa vida útil contra as bactérias.¹⁷ Apesar das notórias vantagens da incorporação destes aditivos antimicrobianos, já é sabido que seu uso pode alterar as propriedades físicas dos materiais odontológicos, aos quais são adicionados, a depender da concentração acrescida.¹¹

No presente estudo, a propriedade mecânica de microdureza foi analisada por meio da comparação entre os grupos modificados e o controle, de suas respectivas marcas comerciais. Para a Noritake Cerabien ZR, o grupo 2,5% apresentou o maior valor de microdureza, enquanto que, para a IPS InLine, o maior valor foi verificado no grupo 1%.

Estes resultados mostraram certa divergência para com os dados obtidos por Vidal et al.¹⁸ e por Ferreira et al.,¹⁷ que também compararam duas cerâmicas comerciais modificadas com o nanomaterial β -AgVO₃. Foi verificado que a adição de maiores concentrações do nanocomposto não prejudicou a propriedade de microdureza das cerâmicas estudadas,¹⁸ diferentemente dos dados obtidos nesta pesquisa. As amostras de 5%, da marca Noritake Cerabien ZR, e de 2,5% e 5%, da marca IPS InLine, mostraram valores menores de microdureza, quando comparados aos grupos com menores concentrações, fato que confirma a redução desta característica mecânica.

Em paralelo, Castro et al.¹⁹ defendem a ideia de que uma pequena porcentagem de partículas nanométricas pode ser suficiente para reforçar a estrutura do material. Fato que embasa os achados do presente estudo, visto que, concentrações menores de β -AgVO₃ foram capazes de aumentar a propriedade de microdureza, quando comparadas ao controle e aos grupos mais concentrados. Logo, incorporações mais concentradas não são sinônimas de melhores características de microdureza.¹⁹

A segunda propriedade mecânica estudada, a rugosidade, também foi avaliada pelo método comparativo, entre os grupos modificados e o controle. Para a marca comercial Noritake Cerabien ZR, os grupos 2,5% e 5% apresentaram maiores médias de rugosidade, quando comparadas ao grupo controle, enquanto que, para a marca IPS InLine, não foi observada diferença estatística entre os grupos.

Ferreira et al.¹⁷ estudaram a propriedade de rugosidade de duas cerâmicas odontológicas também modificadas com o β -AgVO₃ e obtiveram dados semelhantes aos encontrados no

presente estudo. Uma diferença estatística foi observada no grupo de maior contração do nanomaterial, no caso do estudo, 10% de incorporação,¹⁷ resultado convergente com o analisado nesta pesquisa, uma vez que, os grupos com maiores concentrações, 2,5% e 5%, também demonstraram maiores médias de rugosidade.

O aumento da rugosidade nestas amostras apresenta relação direta com a retenção do biofilme e aumento do contingente microbiano que foi analisado em sequência.¹⁸ Além disso, a aspereza do material pode ser influenciada pelo tipo de processamento realizado e uma alta rugosidade pode desencadear fraturas, dada a aplicação de força.¹⁷

A análise antimicrobiana realizada neste estudo contou com o desenvolvimento de ensaios de XTT e de UFC, contra quatro bactérias, cujos dados apontaram menores valores de XTT nos grupos de incorporação 2,5% e 5% testados com *P. aeruginosa* e *A.a.*, respectivamente, para a cerâmica IPS InLine, e nos grupos 1% e 2,5% testados com *S. sobrinus*, *A.a.* e *P. aeruginosa*, para a cerâmica Noritake Cerabien ZR. Já os dados de UFC mostraram diferenças significativas entre todos os grupos testados com *S. mutans*, e entre os grupos 0,5% e 5% testados com *P. aeruginosa*, para a cerâmica IPS InLine. Em contrapartida, as diferentes porcentagens de incorporação de β -AgVO₃ não geraram diferenças significativas para nenhum microrganismo testado com a cerâmica Noritake Cerabien ZR.

As informações obtidas são parcialmente consistentes com as de Ferreira et al.,¹⁷ que, por meio de testes de halo de inibição, obtiveram atividade antimicrobiana em todos os grupos incorporados e testados com *S. mutans*.¹⁷ No presente estudo, o teste de UFC com *S. mutans* foi o único que demonstrou diferença estatística em todos os grupos incorporados com o nanomaterial.

Nota-se que o desempenho antimicrobiano mais evidente está contido nas maiores porcentagens de incorporação do β -AgVO₃, como 5% e 2,5%. Ideia também defendida por de Castro et al.,²⁰ que estudaram a incorporação do mesmo nanomaterial à resina acrílica, obtendo uma redução de biofilme no grupo de adição máxima, 5%, quando comparada ao grupo controle.²⁰ Dessa forma, torna-se perceptível que o efeito antimicrobiano é dose dependente, como defendido por de Castro et al.,^{21,22} ou seja, em geral, quanto maior a concentração de β -AgVO₃, maior seu efeito antibiofilme.^{21,22}

A atividade antimicrobiana do nanomaterial β -AgVO₃ é explicada por de Castro et al.,²¹ uma vez que, os fios de β -AgVO₃ atuam como forma de suporte para as nanopartículas de prata (AgNPs) e promovem uma grande superfície de contato entre elas e os microrganismos.²¹ Este contato proporciona mudanças morfológicas nas membranas

bacteriana e a perda da capacidade de replicação do seu DNA, podendo levar à morte celular.¹⁹

Dados os resultados obtidos, há a possibilidade do uso do β -AgVO₃ como um aditivo antimicrobiano, entretanto, ainda são necessários mais estudos que avaliem a melhor concentração para o emprego clínico, bem como, pesquisas que proponham novos métodos para a melhoria das propriedades mecânicas dos materiais modificados.

6. CONCLUSÕES FINAIS

Diante dos dados apresentados e discutidos, pode-se concluir que:

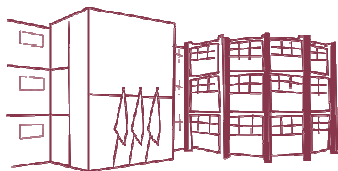
- A modificação das cerâmicas odontológicas, com a incorporação de β -AgVO₃, influenciou nas propriedades mecânicas do material de forma específica para cada variável testada.
- A atividade antimicrobiana é presente nas maiores concentrações incorporadas às duas marcas comerciais.
- São necessários estudos que avaliem a melhor concentração para o emprego clínico, e que proponham novos métodos para a melhoria das propriedades mecânicas dos materiais modificados.

7. REFERÊNCIAS

1. do Amaral GS, Negrini T, Maltz M, Arthur RA. Restorative materials containing antimicrobial agents: is there evidence for their antimicrobial and anticaries effects? A systematic review. *Aust Dent J*. 2016 Mar;61(1):6-15.
2. Silva TSO, Freitas AR, Pinheiro MLL, do Nascimento C, Watanabe E, Albuquerque RF. Oral Biofilm Formation on Different Materials for Dental Implants. *J Vis Exp*. 2018 Jun 24;(136).
3. Andrade, AO et al. Cerâmicas odontológicas: classificação, propriedades e considerações clínicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 36, n. 4, p. 1129-1152, 2017.
4. Queiroz JR, Fissmer SF, Koga-Ito CY, Salvia AC, Massi M, Sobrinho AS, Júnior LN. Effect of diamond-like carbon thin film coated acrylic resin on candida albicans biofilm formation. *J Prosthodont*. 2013 Aug;22(6):451-5.
5. Altieri KT, Sanitá PV, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Jorge JH, Vergani CE. Eradication of a mature methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilm from acrylic surfaces. *Brazilian Dental Journal* 2013; 24(5): 487-91.
6. Valentini F, Luz MS, Boscato N, Pereira-Cenci T. Biofilm formation on denture liners in a randomised controlled in situ trial. *Journal of Dentistry* 2013; 41(5): 420-7.
7. Borzabadi-Farahani A, Borzabadi E, Lynch E. Nanoparticles in orthodontics, a review of antimicrobial and anti-caries applications. *Acta Odontol Scand*. 2014 Aug;72(6):413-7.
8. Cheng H, Li Y, Huo K, Gao B, Xiong W. Long-lasting in vivo and in vitro antibacterial ability of nanostructured titania coating incorporated with silver nanoparticles. *J Biomed Mater Res A*. 2014 Oct;102(10):3488-99.
9. Marambio-Jones C, Hoek EMV. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010. 12(5):1531-1551.
10. Wady AF, Machado AL, Zucolotto V, Zamperini CA, Berni E, Vergani CE. Evaluation of *Candida albicans* adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles. *J Appl Microbiol*. 2012 Jun;112(6):1163-72.
11. Vilela Teixeira AB, Vidal CL, de Castro DT, da Costa Valente ML, Oliveira-Santos C, Alves OL, Dos Reis AC. Effect of incorporation of a new antimicrobial nanomaterial on the physical-chemical properties of endodontic sealers. *J Conserv Dent*. 2017 Nov-Dec;20(6):392-397.

12. Ammann TW, Bostanci N, Belibasakis GN, Thurnheer T. Validation of a quantitative real-time PCR assay and comparison with fluorescence microscopy and selective agar plate counting for species-specific quantification of an in vitro subgingival biofilm model. *J Periodontal Res.* 2013 Aug;48(4):517-26.
13. Culler HF. Formação de biofilme por *Escherichia coli* enteropatogênica atípica. Dissertação de Mestrado (Biotecnologia) Universidade de São Paulo 120f. 2010.
14. Cardoso BC. Efeito de antifúngicos em suspensão e biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*. Dissertação de Mestrado (Biotecnologia) Universidade do Minho, 2004.
15. Holtz RD, Souza Filho AG, Brocchi M, Martins D, Durán N, Alves OL. Development of nanostructured silver vanadates decorated with silver nanoparticles as a novel antibacterial agent. *Nanotechnology.* 2010 May 7;21(18):185102.
16. Holtz RD, Lima BA, Souza Filho AG, Brocchi M, Alves OL. Nanostructured silver vanadate as a promising antibacterial additive to water-based paints. *Nanomedicine.* 2012 Aug;8(6):935-40.
17. Ferreira I, Vidal CL, Botelho AL, Ferreira PS, Valente MLDC, Schiavon MA, Alves OL, Dos Reis AC. Effect of nanomaterial incorporation on the mechanical and microbiological properties of dental porcelain. *J Prosthet Dent.* 2020 Mar;123(3):529.e1-529.e5.
18. Vidal CL, Ferreira I, Ferreira PS, Valente MLC, Teixeira ABV, Reis AC. Incorporation of Hybrid Nanomaterial in Dental Porcelains: Antimicrobial, Chemical, and Mechanical Properties. *Antibiotics (Basel).* 2021 Jan 20;10(2):98.
19. Castro DT, Holtz RD, Alves OL, Watanabe E, Valente ML, Silva CH, Reis AC. Development of a novel resin with antimicrobial properties for dental application. *J Appl Oral Sci.* 2014 Sep-Oct;22(5):442-9.
20. de Castro DT, Teixeira ABV, do Nascimento C, Alves OL, de Souza Santos E, Agnelli JAM, Dos Reis AC. Comparison of oral microbiome profile of polymers modified with silver and vanadium base nanomaterial by next-generation sequencing. *Odontology.* 2021 Jul;109(3):605-614.
21. de Castro DT, Valente ML, da Silva CH, Watanabe E, Siqueira RL, Schiavon MA, Alves OL, Dos Reis AC. Evaluation of antibiofilm and mechanical properties of new nanocomposites based on acrylic resins and silver vanadate nanoparticles. *Arch Oral Biol.* 2016 Jul;67:46-53.
22. de Castro DT, Valente ML, Agnelli JA, Lovato da Silva CH, Watanabe E, Siqueira RL, Alves OL, Holtz RD, dos Reis AC. In vitro study of the antibacterial properties and

impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. *J Prosthet Dent.* 2016 Feb;115(2):238-46.



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 531ª Reunião Ordinária, realizada em 03 de junho de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador), conforme menção constante no trabalho e documentação existente no Serviço de Graduação da FORP.

Ribeirão Preto, 03 de junho de 2024.

Prof. Dr. Michel Reis Messoria
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP