

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - UFJF**

Rafaela Ladeira Bonato

**Formação de biofilmes derivados de saliva humana na superfície de diferentes
resinas para placas estabilizadoras oclusais**

Juiz de Fora

2024

Rafaela Ladeira Bonato

Formação de biofilmes derivados de saliva humana na superfície de diferentes resinas para placas estabilizadoras oclusais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof. Dr^a. Laísa Araújo Cortines Laxe

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ladeira Bonato, Rafaela.

Formação de biofilmes derivados de saliva humana na superfície de diferentes resinas para placas estabilizadoras oclusais / Rafaela Ladeira Bonato. -- 2024.

48 p.

Orientador: Laísa Araújo Cortines Laxe

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, 2024.

1. Biofilme. 2. Placas estabilizadoras oclusais. 3. Propriedades de superfície. I. Araújo Cortines Laxe, Laísa , orient. II. Título.

Rafaela Ladeira Bonato

Formação de biofilmes derivados de saliva humana na superfície de diferentes resinas para placas estabilizadoras oclusais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em 25 de março de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Laísa Araujo Cortines Laxe - Orientadora e Presidente da Banca

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof.ª Dr.ª Ana Carolina Morais Apolônio - Membro titular interno

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof. Dr. Luciano Ambrósio Ferreira - Membro titular externo

Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora FCMS/JF - SUPREMA

Juiz de Fora, 29/02/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Laisa Araujo Cortines Laxe, Professor(a)**, em 25/03/2024, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Morais Apolonio, Professor(a)**, em 25/03/2024, às 15:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **LUCIANO AMBROSIO FERREIRA, Usuário Externo**, em 25/03/2024, às 15:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1725422** e o código CRC **B91D16AC**.

*Dedico este trabalho a minha amada filha **Beatriz**, fonte constante de inspiração e alegria. Agradeço por sua paciência e compreensão nos momentos em que minha atenção estava dedicada aos estudos. Seu sorriso iluminou os dias mais desafiadores, lembrando-me do propósito e da importância desta jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a **Deus**, cuja graça e orientação estiveram sempre presentes, guiando-me nos momentos mais desafiadores.

Aos meus pais, **Afonso** e **Rosângela**, cujo apoio inabalável e valores transmitidos moldaram a pessoa que sou hoje, expresso minha gratidão eterna. Suas palavras sábias foram a âncora que me manteve firme nos momentos mais desafiadores.

À minha amada irmã **Letícia**, cujo apoio inabalável e encorajamento constante foram um farol orientador, agradeço por estar sempre ao meu lado, celebrando cada vitória e superando cada obstáculo juntas.

Ao meu querido marido **Carlos**, meu companheiro incansável, agradeço por ser meu pilar de força, apoiando-me nos altos e baixos desta jornada acadêmica. Sua compreensão, incentivo e amor incondicional foram a base que sustentou cada passo que dei nesse caminho.

À minha orientadora **Laísa**, sua orientação sábia e incentivo constante foram fundamentais para o sucesso desta jornada. Agradeço por toda paciência e ensinamentos. Obrigada por me fazer encantar pela pesquisa!

À professora **Ana Carolina**, minha gratidão pelas orientações valiosas, principalmente na parte microbiológica. Sua contribuição ajudou a moldar e refinar a proposta desta pesquisa.

À **Mariana Simões** e **Beatriz Tomé**, meu agradecimento especial pela colaboração na execução dos testes microbiológicos.

Ao **Luciano Reis**, técnico em Prótese Dentária e colega de profissão que possibilitou a execução de uma importante etapa deste trabalho.

Agradeço a todos os colegas, amigos e familiares que, de alguma forma, contribuíram para este momento.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”. (Arthur Schopenhauer)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a influência das características superficiais das resinas empregadas na confecção de placas estabilizadoras oclusais sobre a formação de biofilmes polimicrobianos derivados de saliva humana. 360 corpos de prova cilíndricos (4,0mm x 1,5mm) foram confeccionados com resinas a base de polimetilmetacrilato (PMMA), sendo divididos em 3 grupos, de acordo com a técnica de confecção e a resina empregada: grupo RAT (controle) - resina termopolimerizável convencional (n=120), grupo RAF - resina fresada (n=120) e grupo RAI - resina impressa (n=120). A energia livre de superfície e a rugosidade das superfícies de cada grupo de resinas foram caracterizadas. A formação de biofilmes foi analisada realizando-se os ensaios de adesão, quantificação da matriz extracelular e caracterização da superfície em microscopia eletrônica de varredura. Os dados relacionados à caracterização das superfícies das resinas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$). Para a análise microbiológica foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O grupo RAI apresentou a maior energia livre de superfície ($55,1^{\circ} \pm 5,82$), indicando sua maior característica hidrofílica quando comparado ao RAF ($73,3^{\circ} \pm 4,71$; $p < 0,001$) e ao RAT ($71,7^{\circ} \pm 4,08$; $p < 0,001$). Não houve diferença significativa entre os grupos quanto à rugosidade superficial, embora tenha havido maior tendência de rugosidade para o grupo RAF ($16,1 \pm 1,78$; $p = 0,067$). No período de 4 dias, o total de biofilme formado foi maior no grupo RAI do que no RAT ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística entre os grupos RAF e RAT ($p > 0,05$). Observou-se maior formação de biofilme no grupo RAI e menor formação no grupo RAF em todo o período de análise (2, 4 e 6 dias). Ao 4º dia, RAI apresentou o maior quantidade de carboidratos na matriz, sendo diferente estatisticamente do grupo controle (RAT; $p < 0,05$). Ao 6º dia, RAI e RAT não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) no total de proteínas presentes na matriz extracelular do biofilme formado. Neste período avaliado, não foi possível detectar matriz extracelular no grupo RAF. Conclui-se que a resina impressa possibilitou maior formação de biofilme a partir da saliva, bem como, a maior energia livre de superfície. O melhor desempenho contra a formação de biofilmes a partir de saliva humana foi observado para a resina fresada.

Palavras-chave: Placas oclusais. Biofilme. Rugosidade superficial. Propriedades de superfície.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate in vitro the influence of the surface characteristics of the resins used in the fabrication of occlusal stabilizing plates on the formation of polymicrobial biofilms derived from human saliva. 360 cylindrical specimens (4.0mm x 1.5mm) were fabricated with polymethylmethacrylate (PMMA) resins, divided into 3 groups according to the fabrication technique and resin used: RAT group (control) - conventional thermopolymerizable resin (n=120), RAF group - milled resin (n=120), and RAI group - printed resin (n=120). The surface free energy and roughness of the surfaces of each resin group were characterized. Biofilm formation was analyzed by adhesion tests, quantification of extracellular matrix, and surface characterization using scanning electron microscopy. Data related to resin surface characterization were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test, considering a significance level of 95% ($\alpha = 0.05$). Mann-Whitney test was used for microbiological analysis. The RAI group presented the highest surface free energy ($55.1^\circ \pm 5.82$), indicating its higher hydrophilic characteristic compared to RAF ($73.3^\circ \pm 4.71$; $p < 0.001$) and RAT ($71.7^\circ \pm 4.08$; $p < 0.001$). There was no significant difference between the groups regarding surface roughness, although there was a higher tendency for roughness in the RAF group (16.1 ± 1.78 ; $p = 0.067$). Over a period of 4 days, the total biofilm formed was higher in the RAI group than in the RAT group ($p < 0.05$). There was no statistical difference between the RAF and RAT groups ($p > 0.05$). Greater biofilm formation was observed in the RAI group and lower formation in the RAF group throughout the analysis period (2, 4, and 6 days). On the 4th day, RAI showed the highest amount of carbohydrates in the matrix, which was statistically different from the control group (RAT; $p < 0.05$). On the 6th day, RAI and RAT showed no statistical differences ($p > 0.05$) in the total proteins present in the extracellular matrix of the formed biofilm. Extracellular matrix was not detected in the RAF group during this evaluated period. It is concluded that printed resin enabled greater biofilm formation from saliva, as well as the highest surface free energy. The best performance against biofilm formation from human saliva was observed for milled resin.

Keywords: Occlusal splint. Biofilms. Surface roughness. Surface Properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Fresagem do bloco de PMMA para confecção dos corpos de prova de resina odontológica de fabricação subtrativa.....	18
Figura 2	Inclusão em mufla dos corpos de provas replicados em cera odontológica.....	19
Figura 3	Base na qual os corpos de prova foram acoplados para receber acabamento e polimento.....	20
Figura 4	Mensuração da gota formada na superfície do corpo de prova.....	21
Figura 5	Desenho esquemático do teste para mensuração da energia livre de superfície.....	21
Figura 6	– Fotomicrografia em MEV, com magnitudes de 5.000x e 20.000x, da formação de biofilmes derivados de saliva na superfície dos três grupos de resinas, nos tempos de 2, 4 e 6 dias de acompanhamento.....	29
Gráfico 1	– Análise de variância dos dados da rugosidade superficial.....	26
Gráfico 2	– Formação de biofilme salivar de acordo com a resina utilizada ao longo do tempo.....	27
Gráfico 3	– Quantificação de proteínas da matriz extracelular de biofilmes formados nas diferentes resinas a partir de saliva humana ao longo do tempo.....	27
Gráfico 4	– Contagem total de carboidratos da matriz extracelular aderida nas diferentes resinas a partir de saliva humana ao longo do tempo.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Informações das resinas empregadas no estudo.....	17
Tabela 2	– Análise descritiva (média e desvio-padrão) dos dados obtidos a partir da medição do ângulo de contato (n=10) e da rugosidade superficial (n=5) e análise de variância (ANOVA).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Três dimensões
CAD	<i>Computer-aided design</i>
CAM	<i>Computer-aided manufacturing</i>
DTM	Desordens Temporomandibulares
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
PMMA	Polimetilmetacrilato
Ra	Rugosidade
RAI	Resina acrílica impressa
RAF	Resina acrílica fresada
RAT	Resina acrílica termopolimerizável
UV	Ultra violeta
µL	Microlitro
µm	Micrometro
DO	Densidade ótica
USA	United States of America
RS	Rio Grande do Sul
SP	São Paulo
SC	Santa Catarina
PR	Paraná
Nm	Nanômetro
mL	Mililitro
g	Gramma
cm	Centímetro
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
h	Horas
rpm	Rotação por minuto
Na	Sódio
K	Potássio
min	Minutos
x	Veze
nmol	Nanomol

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
°C	Grau Celsius
θ	Ângulo de contato

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	PROPOSIÇÃO.....	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1	CONFECÇÃO DE CORPOS DE PROVA.....	17
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES.....	20
3.2.1	Energia livre de superfície.....	20
3.2.2	Rugosidade de Superfície.....	21
3.3	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	22
3.3.1	Limpeza e esterilização das amostras.....	22
3.3.2	Coleta de saliva.....	22
3.3.3	Estudo da formação de biofilme microbiano.....	22
3.3.4	Quantificação de biofilme microbiano.....	23
3.3.5	Quantificação de matriz extracelular.....	24
3.3.6	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	25
4	RESULTADOS.....	25
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES.....	26
4.1.1	Energia livre de superfície e rugosidade superficial.....	26
4.2	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	27
4.2.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	30
5	DISCUSSÃO.....	31
6	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38
	ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	42

1 INTRODUÇÃO

As disfunções temporomandibulares (DTM) acometem cerca de 30%-50% da população mundial (ALRIZQI e ALEISSA, 2023) e o bruxismo do sono possui prevalência de 1%-15% em adultos e de 3%-49% em crianças e adolescentes (MELO *et al.*, 2019). Considerando que a busca pela estabilidade oclusal, a proteção de estruturas dentárias / tecidos de suporte, e a diminuição da sobrecarga músculo-articular fazem parte dos objetivos terapêuticos das placas estabilizadoras oclusais (AL-ANI *et al.*, 2005; KUZMANOVIC PFICER *et al.*, 2017), estas são constantemente indicadas na rotina odontológica quando tais alterações são diagnosticadas (CROUT, 2017; KUZMANOVIC PFICER *et al.*, 2017). Entretanto, além do diagnóstico preciso, a escolha do material de confecção da placa é uma decisão crucial no planejamento do tratamento, influenciando sua eficácia, durabilidade, e conforto (NASSIF *et al.*, 2023).

Para a fabricação das placas estabilizadoras oclusais, tradicionalmente utiliza-se resina acrílica autopolimerizada ou termicamente polimerizada (VÄYRYNEN, TANNER e VALLITTU, 2016). Recentemente, com os avanços nas tecnologias CAD/CAM (Computer-aided design / computer-aided manufacturing), foram introduzidos novos métodos subtrativos (por fresagem de blocos de resina acrílica pré-fabricados) e aditivos (por impressão 3D dos dispositivos com resina a base de polimetilmetacrilato), para a fabricação das placas oclusais a partir de modelos digitais (NASSIF *et al.*, 2023). No método aditivo, cada camada de resina é fotopolimerizada pela projeção de luz. Após o objeto formado, o excesso de monômeros é removido com o uso de álcool propranol (SANTOS *et al.*, 2022). Já a fabricação subtrativa é um método de corte de blocos pré-fabricados de resina acrílica, cuja fresagem pode ser em equipamentos que possuam três, quatro ou cinco eixos (ABAD-CORONEL *et al.*, 2023).

Estas novas tecnologias de fabricação trouxeram vantagens (DE PAULA LOPEZ *et al.*, 2023), como o menor tempo clínico e laboratorial gasto para confecção dos dispositivos e o fato dos mesmos, caso necessário, poderem ser facilmente refeitos, sem a necessidade de novas impressões (BERNTSEN *et al.*, 2018). Em contrapartida, como cada um destes materiais possuem propriedades inerentes às suas composições, a compreensão das mesmas torna-se importante para atingir um melhor sucesso terapêutico, equilibrando indicações, custo, tempo de trabalho,

manutenção da saúde oral e longevidade dos dispositivos (DE PAULA LOPEZ *et al.*, 2023).

Uma propriedade importante que deve ser considerada pelos profissionais é a formação de comunidades polimicrobianas sobre as placas, uma vez que qualquer material presente na cavidade bucal pode atuar como alvos potenciais para a adesão de microrganismos (HJERPPE *et al.*, 2021). Estes microrganismos aderidos são denominados biofilmes e apresentam patogenicidade influenciada por uma combinação de determinantes ambientais e variáveis do hospedeiro, como a saliva (LYNGE PEDERSEN e BELSTRØM, 2019; DAS *et al.*, 2023). Uma vez que as placas oclusais são utilizadas por várias horas diárias, acredita-se que a escolha do material de confecção possa influenciar diretamente este processo (WUERSCHING *et al.*, 2023), especialmente considerando-se as propriedades da superfície obtida (COMBE, OWEN e HODGES, 2004; ALRABEAH *et al.*, 2023).

Os biofilmes bucais estão associados entre outros, ao desenvolvimento de cáries, doenças periodontais, peri-implantites, estomatites, candidíases (VERMA, GARG e DUBEY, 2018; STERZENBACH *et al.*, 2020) e até mesmo pode contribuir para falhas dos materiais utilizados no ambiente bucal (STERZENBACH *et al.*, 2020). Como microrganismos destaque que podem estar envolvidos na adesão às placas oclusais temos *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, ambos constituintes da microbiota residente humana (SCHUBERT *et al.*, 2021).

Sob a perspectiva das propriedades superficiais dos materiais das placas oclusais que contribuem não apenas para a maior adesão microbiana, mas também influenciam na seleção de microrganismos específicos (QUIRYNEN e VOGELS, 2002; COMBE, OWEN e HODGES, 2004; ALRABEAH *et al.*, 2023) destacam-se a energia livre de superfície e a rugosidade superficial. A primeira é definida como uma força de atração da superfície que não pode ser medida diretamente, determinando como o sólido se comporta em contato com outros materiais, como aqueles em estado líquido (LIBER-KNEĆ e ŁAGAN, 2021). Já a rugosidade superficial define as fissuras, riscos ou vestígios resultantes de um determinado processo de trabalho ou acabamento/polimento (ALRABEAH *et al.*, 2023; POPESCU *et al.*, 2023). Conseqüentemente, estas devem ser consideradas pelo profissional ao escolher o material de confecção das placas e ao traçar prognósticos envolvendo o sucesso terapêutico, a saúde e conforto do paciente (GRYMAK *et al.*, 2021).

Destá forma, a realização de estudos *in vitro* dos novos materiais utilizados na confecção de placas estabilizadoras oclusais tornam-se essenciais para avaliar se podem ser uma alternativa ao utilizado classicamente, fornecendo uma avaliação preliminar sobre suas propriedades (GUERRERO-GIRONÉS *et al.*, 2022; WUERSCHING *et al.*, 2023).

2 PROPOSIÇÃO

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar *in vitro* a formação de biofilmes polimicrobianos a partir da saliva humana associada às características de superfície de resinas odontológicas a base de polimetilmetacrilato usualmente utilizados para a confecção de placas estabilizadoras oclusais sob diferentes técnicas laboratoriais, fabricação aditiva (resinas para impressão 3D), subtrativa (resinas em bloco para fresagem) e convencional com resinas acrílicas termopolimerizáveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a superfície das diferentes resinas odontológicas a base de polimetilmetacrilato quanto à energia livre de superfície, por meio da medição de ângulo de contato;
- Caracterizar a superfície das diferentes resinas odontológicas a base de polimetilmetacrilato quanto à rugosidade superficial, por meio da análise com rugosímetro;
- Quantificar a formação de biofilme polimicrobiano e de matriz extracelular a partir de saliva humana em cada tipo de resina;
- Analisar qualitativamente o biofilme formado nas superfícies das amostras, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CONFECÇÃO DE CORPOS DE PROVA

Foram confeccionados 360 corpos de prova cilíndricos com diâmetro de 4mm e altura de $1,5\text{mm} \pm 0,2\text{ mm}$, que foram divididos em três grupos, considerando-se os principais materiais utilizados atualmente para a confecção de placas estabilizadoras oclusais: 1) grupo controle de resina acrílica termopolimerizável (Grupo RAT; n = 120), 2) grupo teste de resina odontológica de fabricação subtrativa - fresada (Grupo RAF; n = 120) e 3) grupo teste de resina odontológica de fabricação aditiva - impressa (Grupo RAI; n = 120). As informações sobre as resinas utilizadas encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Informações das resinas empregadas no estudo

Resina	Nome Comercial	Fabricante	Composição química
Termopolimerizável (Grupo RAT – controle)	Acrílico Termo Polimerizante	Clássico®, São Paulo, SP, Brasil	Copolímero metilmetacrilato, DBP, pigmentos, peróxido de benzoíla, inibidor
Fresada (Grupo RAF)	Blocos acrílicos em PMMA para sistema CAD/CAM	Bapex Block®, Curitiba, PR, Brasil	Polimetilmetacrilato de metila, pigmentos biocompatíveis, EDMA, fluorescente
Impressa (Grupo RAI)	Cosmos Splint	Yller®, Pelotas, RS, Brasil	Oligômeros, monômeros, fotoiniciadores, estabilizante, pigmento.

Fonte: Próprio autor, 2023.

Nos grupos de resinas obtidas pelo método CAD/CAM (grupos RAF e RAI), os espécimes foram projetados usando o software CAD de código aberto (Fusion 360, Autodesk, Mill Valley, USA) com uma orientação de impressão de 90°. Os corpos de prova do grupo RAI (Cosmos Splint, Yller®, Pelotas, RS, Brasil) foram confeccionados

em impressora 3D (PHOTON S, Anycubic 3D Printing, Shenzhen, Guangdong), usando a tecnologia de processamento de luz digital. Os monômeros residuais presentes na superfície foram eliminados imergindo os corpos de prova em álcool isopropílico. A pós-polimerização foi realizada de acordo com as instruções do fabricante, utilizando uma unidade de polimerização com luz ultravioleta (UV) integrada (comprimento de onda de aproximadamente 405nm), por 10 minutos. As estruturas de suporte foram removidas com instrumentos rotatórios em motor de baixa rotação (KaVo do Brasil Ind. Com. LTDA, Joinville, SC, Brasil).

No grupo RAF, os corpos de prova foram obtidos a partir da fresagem padronizada (Ceramill Mikro5x, Amann Girrbach, Curitiba, PR, Brasil) de blocos de PMMA para CAD/CAM (Bapex Block®, Curitiba, PR, Brasil) como ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Fresagem do bloco de PMMA para confecção dos corpos de prova de resina odontológica de fabricação subtrativa



Fonte: Próprio autor, 2023.

Para a confecção dos corpos de prova do grupo controle (RAT), 120 amostras foram, inicialmente, impressas digitalmente, as quais foram fielmente copiadas em cera e incluídas em gesso tipo 3 (Yamay®), em mufla (MAC® número 6). A mufla foi levada em prensa hidráulica (Essence dental®) para remoção do excesso de gesso

(figura 2). Após sua cristalização, o conjunto foi levado em um recipiente com água em ebulição para plastificação da cera. Os resíduos de cera foram removidos com água fervente. A resina acrílica termopolimerizável (Clássico®) foi então manipulada na proporção de 3:1 (65ml/14g de pó) e vertida na base da mufla. O conjunto mufla/contra-mufla foi novamente levado em prensa hidráulica a uma pressão de 1,5 tonelada para o escoamento do excesso de resina acrílica. Removido o excesso de resina acrílica, a mufla e a contra-mufla voltaram a receber uma pressão de 1,5 tonelada por 12 horas. Após este tempo, a polimerização da resina ocorreu em panela de pressão (60 libras, a 90°C) durante 90 minutos. Ao fim, aguardou-se o conjunto esfriar naturalmente para sua abertura e remoção dos corpos de prova. O recorte dos excessos de resina acrílica foi realizado com fresas de tungstênio para acabamento de resina acrílica (American Burrs®, Palhoça, SC, Brasil) acopladas em peça reta e micromotor, sob baixa rotação (KaVo do Brasil Ind. Com. LTDA, Joinville, SC, Brasil).

Figura 2 – Inclusão em mufla dos corpos de provas replicados em cera odontológica

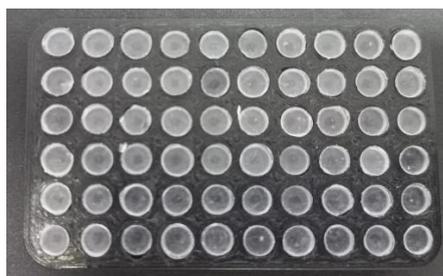


Fonte: Próprio autor, 2023

Todos os corpos de prova foram submetidos a acabamento e polimento em uma de suas faces, simulando assim o protocolo que é realizado, normalmente, nas placas estabilizadoras oclusais, em que somente a superfície externa destes dispositivos costuma receber polimento (figura 3). Para o acabamento, utilizou-se sequencialmente lixas d'água de diferentes granulações (600 > 800 > 1000 > 1200) adaptadas à politriz PL02 (Teclago Indústria, Comércio e Serviços de Máquinas e Equipamentos Ltda®, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil). O polimento foi realizado em motoesmeril de bancada (SHULZ, Shulz Compressores LTDA®, Joinville, SC,

Brasil) com escova de pelo número 20, embebida em pasta de pedra pomes e água, seguido por flanela de algodão embebida em pasta de polimento universal Kota® (Cotia, SP, Brasil).

Figura 3 – Base na qual os corpos de prova foram acoplados para receber acabamento e polimento



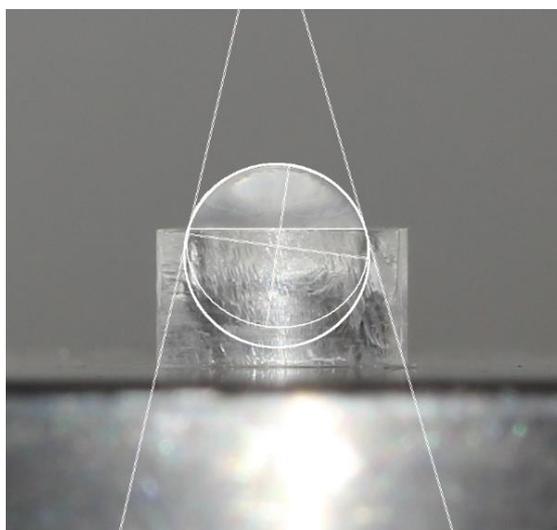
Fonte: Próprio autor, 2023.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES

3.2.1 Energia livre de superfície

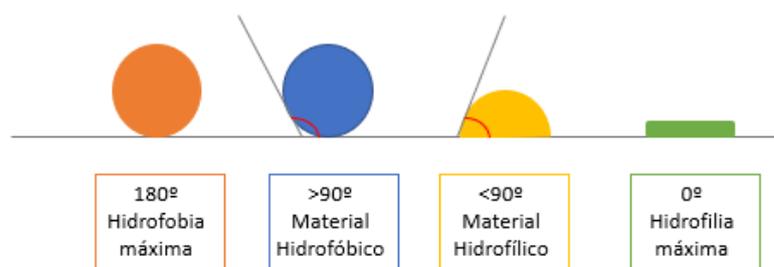
A energia livre de superfície foi determinada pela medição do ângulo de contato (θ) usando água destilada como líquido de referência. O método consiste na aplicação de uma gota séssil (50 μ L de volume) do líquido de referência com uma seringa sobre um espécime. O perfil das gotas líquidas foi registrado por máquina fotográfica Canon T3i e lente macro de 100x com flash circular, estando a distância e o posicionamento da lente para registros sempre mantidos de forma padronizada para todas as amostras (72 cm). O ângulo de contato (θ) foi calculado sobre 5 espécimes de cada grupo, por meio do programa de computador ImageJ® (ImageJ, National Institute of Health, Bethesda, Maryland, EUA), através da medição dos ângulos formados sobre a superfície polida de cada amostra, em ambas as margens esquerda e direita da gota de água (figura 4). Na figura 5 está representado a classificação do material quanto à sua capacidade de molhamento.

Figura 4 – Mensuração da gota formada na superfície do corpo de prova



Fonte: Próprio autor, 2023.

Figura 5 – Desenho esquemático do teste para mensuração da energia livre de superfície



Fonte: Próprio autor, 2023.

3.2.2 Rugosidade de superfície (Ra)

A rugosidade superficial foi avaliada sobre a superfície polida de cinco espécimes de cada grupo, escolhidas aleatoriamente, em triplicata, utilizando-se o rugosímetro (RP-100, Instrutherm®, São Paulo, SP, Brasil). O valor da média das três aferições sobre uma mesma superfície foi obtido.

3.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

3.3.1 Limpeza e esterilização das amostras

Resíduos de cera e sujidades foram removidos das amostras de todos os grupos com sucessivos mergulhos em água em ebulição. Todos os grupos foram mantidos na água quente durante o mesmo período de tempo (30 minutos).

A esterilização das amostras (n=63) foi feita por exposição à luz UV dentro de capela de fluxo laminar, durante 30 minutos para cada face dos discos. Em seguida, estes foram separados em três placas de Petri estéreis (n=21), de acordo com o tipo de resina (RAI, RAF e RAT) e armazenados até o momento do uso.

3.3.2 Coleta de saliva

Foi coletado 5mL de saliva humana de três participantes voluntários, com média de idade de 27,5 anos. Para a coleta foram utilizados recipientes plásticos estéreis de 50mL. Os participantes deveriam ter entre 18 e 50 anos, de ambos os sexos, que não tivessem realizado uso de antimicrobianos ou enxaguantes bucais nos últimos três meses. Deveriam ser excluídos aqueles que apresentassem alterações sistêmicas e/ou utilizassem medicamentos capazes de alterar o fluxo salivar. Os voluntários foram orientados a não realizar qualquer tipo de profilaxia bucal a partir da última refeição realizada na noite que antecedeu a coleta da saliva (totalizando um período de pelo menos 12 horas). Para o processamento microbiano, as amostras de saliva dos três participantes foram colocadas juntas num mesmo frasco e homogeneizadas. Posteriormente, foram depositados nos poços das microplacas e realizados os testes descritos a seguir. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), sob o protocolo 61384922.7.0000.5147, em 22 de setembro de 2022.

3.3.3 Estudo da formação de biofilme microbiano

Este estudo foi realizado de maneira a simular a utilização de uma placa interoclusal, utilizando os períodos de 12h da placa em boca e 12h no ambiente. Para simulação do período em boca as amostras foram colocadas delicadamente com

auxílio de uma pinça individualmente nos poços de placas de 96 poços de fundo plano, e acrescentados 20µL de saliva e 180µL de caldo Brain-Heart-infusion (BHI). Posteriormente, foram incubadas em condições de microaerofilia durante 12 horas em estufa a 37°C. Após este período, foram retiradas e mergulhadas gentilmente em água destilada esterilizada durante 10 segundos, para simulação de lavagem em água corrente e então transferidas para poços vazios de novas placas de 96 poços para manutenção em dessecador, a temperatura ambiente durante 12h. Este procedimento foi repetido durante seis dias. Ao completar dois, quatro e seis dias de alternância entre incubação com saliva e armazenamento em temperatura ambiente, simulando portanto respectivamente períodos de dois, quatro e seis dias de uso de uma placa interoclusal, as amostras (n=21 / 7 de cada grupo) eram aleatoriamente removidas de cada grupo para a realização de quantificação do biofilme microbiano formado (n=3), quantificação da matriz extracelular do biofilme (n=3) e avaliação qualitativa do biofilme por microscopia eletrônica de varredura (n=1).

3.3.4 Quantificação de biofilme microbiano

Para este teste, três amostras de cada grupo (RAI, RAT e RAF) foram removidas nos intervalos de 2, 4 e 6 dias de estudo e transferidas para outra placa limpa. Em seguida foram lavadas três vezes com salina para remover células não aderidas, passadas para poços vazios da placa e deixadas para secar durante 15 minutos na estufa (37°C). Então, 200µL de cristal violeta foram adicionados em cada poço contendo as amostras para coloração do biofilme por um total de 30 minutos. Em seguida, as resinas foram retiradas dos poços e lavadas três vezes com água destilada estéril em três poços diferentes (200µL por poço) para que fosse removido o excesso de corante. Depois, foram secas novamente em estufa durante 15 minutos e ressuspensas com 200µL de solução de etanol:acetona (80:20) durante 10 minutos. Posteriormente, o volume do poço foi homogeneizado, a resina removida e a densidade óptica (DO) da solução lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 595nm (triplicata). Como branco de leitura foi utilizada a solução de etanol:acetona.

3.3.5 Quantificação de matriz extracelular

Os corpos de prova (n=9/ 3 de cada grupo) foram coletados assepticamente do caldo BHI e passados três vezes em salina esterilizada para remoção de células não aderidas. Então, os corpos de prova foram inseridos individualmente em tubos de microcentrifuga contendo 1ml de salina e agitados vigorosamente em vortex por 8 minutos, a fim de desbridar o biofilme. Em seguida, os corpos de prova foram removidos com auxílio de pinças e descartados. As soluções salinas foram centrifugadas durante 20 minutos a 3000 rpm. Os sobrenadantes foram retirados com auxílio de pipeta e transferidos para novos tubos, enquanto os pellets foram descartados. Estes sobrenadantes foram submetidos a análises de quantificação de carboidratos e proteínas.

Para a determinação de carboidratos as análises foram feitas de acordo com DUBOIS *et al.* (1956) com as modificações propostas por Masuko *et al.* (2005). Para esse teste, foram utilizados sobrenadantes correspondentes a três amostras de cada grupo coletadas em 3 tempos diferentes (2, 4 e 6 dias de estudo). Primeiramente construída a curva de calibração obtida a partir de 6 concentrações de glicose, variando de 0,005 a 0,03%. Para o preparo das amostras, foram adicionados 30 µL dos sobrenadantes derivados de cada amostra (RAI, RAF e RAT) e 970 µL de água, em triplicata. Em todos os tubos de ensaios, incluindo os de referência, adicionou-se 25 µL de fenol 80% e 2,5 mL de ácido sulfúrico. Após aguardar 10 minutos, os tubos foram levados para o banho ultrassônico a 37°C, durante 30 minutos. Ao retirar do banho, foram retirados 200 µL de cada tubo e transferidos para uma placa de 96 poços realizando a leitura em espectrofotômetro a 490 nm.

Para a determinação de proteínas, as análises foram feitas de acordo com LOWRY *et al.* (1951), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, que sofre redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre. Para o preparo do tubo branco, foram pipetados: 400 µL de água, 2 mL de mistura reagente (solução alcalina estoque, tartarato de Na e K 2% e sulfato de cobre 1%) e 200 µL de reagente Folin-Ciocalteu. Em seguida, foram preparados tubos de ensaio com 390, 380, 370 e 360 µL de água, sendo adicionados respectivamente, 10, 20, 30 e 40 µL de albumina 0,1%, para a construção da curva de calibração.

Então, foram adicionados igualmente em todos os tubos 2 mL de solução reagente e estes foram incubados por 10 min em temperatura ambiente. Em seguida,

foram adicionados 200 µL de reagente Folin-Ciocalteu e os tubos foram incubados por mais 30 min. Para o preparo das amostras, foram pipetados 10 µL dos sobrenadantes de cada amostra (RAI, RAF e RAT), coletadas em 3 tempos diferentes (2, 4 e 6 dias de estudo), em triplicata, de acordo com o preparo das soluções da curva de calibração. Após o tempo estipulado, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 660 nm.

3.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A fim de avaliar qualitativamente o biofilme formado nos períodos de 2, 4 e 6 dias de simulação de uso da placa, um corpo de prova de cada grupo (RAI, RAF e RAT) foi submetido a processamento para avaliação por MEV.

Para tanto após limpeza e/ou processamento para formação de biofilme os corpos de prova foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato (pH 7,2) por 30 minutos. Após, foram desidratadas em diluições seriadas de etanol:H₂O (30:70, 50:50: 70:30) durante 15 minutos em cada diluição, e secas em ponto crítico. Em seguida as amostras foram metalizadas com ouro e observadas ao microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM-6390LV) pertencente à plataforma Rudolf Barth do Instituto Oswaldo Cruz / Fiocruz.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estatísticos foram analisados utilizando o software estatístico Jamovi, adotando um intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5%.

Os dados relacionados à rugosidade superficial e energia livre de superfície foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Foi também aplicado o teste de Levene para verificar a homogeneidade da distribuição destes dados, bem como, o teste de Shapiro-Wilk para verificar a curva de normalidade desta. Perante diferenças estatísticas significativas entre os 3 grupos de comparação, o teste de Tukey de comparações múltiplas foi adotado, considerando-se 95% de confiança em todas as análises.

Para a análise microbiológica, aplicou-se o teste de Mann-Whitney ao se comparar separadamente o grupo controle (RAT) com o grupo RAI e com o RAF, assumindo-se 95% de confiança.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES

4.1.1 Energia livre de superfície e Rugosidade

Tabela 2 - Análise descritiva (média e desvio-padrão) dos dados obtidos a partir da medição do ângulo de contato (n=10) e da rugosidade superficial (n=5) e análise de variância (ANOVA)

Caracterização das Superfícies	Resina Termopolimerizável (controle – RAT)	Resina Impressa (RAI)	Resina Fresada (RAF)	p-value
Ângulo de Contato (θ) (n=10) Mean (\pmSD)	71,7 (\pm 4,08)	55,1 (\pm 5,82)	73,3 (\pm 4,71)	p < 0,001
Rugosidade (n=5) Mean (\pmSD)	13,3 (\pm 1,44)	13,8 (\pm 1,52)	16,1 (\pm 1,78)	p = 0,067

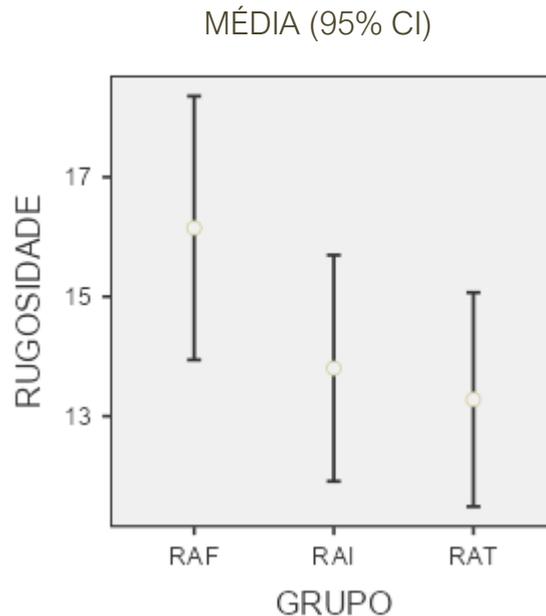
A partir do teste estatístico de Shapiro-Wilk para verificação da distribuição de normalidade dos dados obtidos a partir da caracterização das superfícies das amostras deste estudo, confirmou-se a distribuição normal dos dados, tanto para os ângulos de contato medidos para análise da energia livre de superfície ($p = 0,211$) quanto para os parâmetros de rugosidade verificados ($p = 0,147$). O teste de Levene considerou uma distribuição homogênea dos dados em ambas as análises ($p > 0,05$).

ANOVA indicou uma diferença estatisticamente significativa entre os diferentes materiais testados quanto à caracterização da energia livre de superfície avaliada a partir da medição do ângulo de contato sobre as superfícies das amostras ($p < 0,001$), embora todos os grupos de resina tenham apresentado uma característica hidrofílica de suas superfícies, isto é, ângulos de contato inferiores a 90° , como mostrado na Tabela 2. A partir das comparações múltiplas entre os grupos de resina testados, por meio do teste estatístico de Tukey, observou-se menores ângulos de contato formados sobre a superfície da resina impressa (RAI), indicando sua maior característica hidrofílica quando comparada à resina fresada ($p < 0,001$) e à resina termopolimerizável convencional ($p < 0,001$).

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos testados para a rugosidade superficial, embora o valor limítrofe do p-value ($p = 0,067$), bem

como, os dados descritivos, indiquem maior tendência de rugosidade para a resina fresada (RAF; $16,1 \pm 1,78$), como se pode observar no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Análise de variância dos dados da rugosidade superficial.

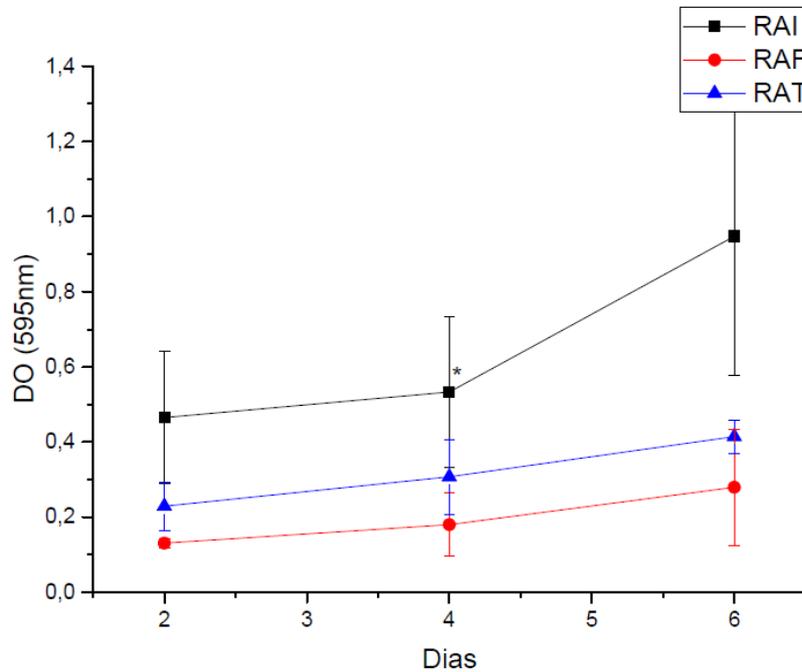


(RAT = resina acrílica termopolimerizável; RAF = resina odontológica de fabricação subtrativa – fresada; RAI = resina odontológica de fabricação aditiva – impressa).

4.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais avaliados para o total de biofilme formado nos segundo e quarto dias de simulação de uso da placa estabilizadora oclusal. Entretanto, foi constatada diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) no período do sexto dia entre o grupo controle (RAT) e o grupo RAI. É possível destacar que a resina impressa (RAI) apresentou maior acúmulo de biofilme nos três tempos avaliados (2, 4 e 6 dias) e a fresada (RAF) apresentou comportamento semelhante ao grupo controle (RAT) além de menor acúmulo de biofilme em todo o período analisado, conforme apresentado no gráfico 2.

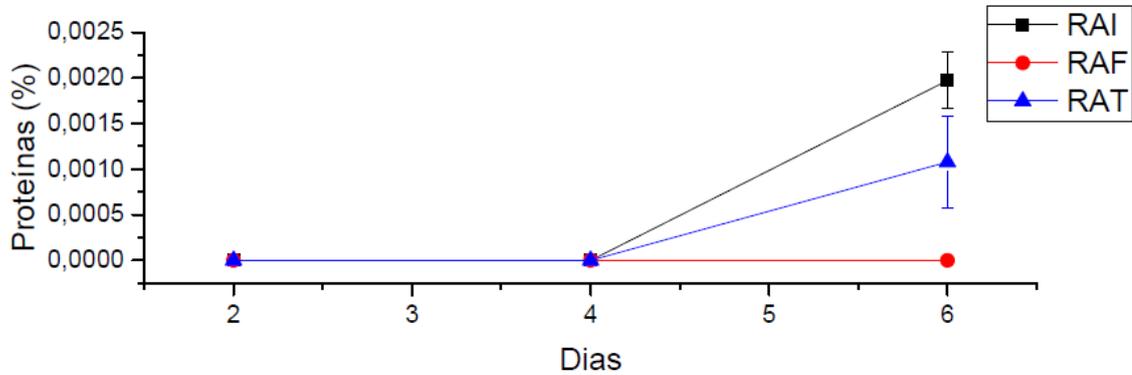
Gráfico 2- Formação de biofilme salivar de acordo com a resina utilizada ao longo do tempo.



(DO= Densidade ótica; RAT = resina acrílica termopolimerizável; RAF = resina odontológica de fabricação subtrativa – fresada; RAI = resina odontológica de fabricação aditiva – impressa).

O total de proteínas presente na matriz extracelular dos biofilmes derivados de saliva somente foi detectado ao sexto dia de ensaio para os grupos RAI e RAT, como se pode observar no gráfico 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos pesquisados nos tempos analisados ($p > 0,05$).

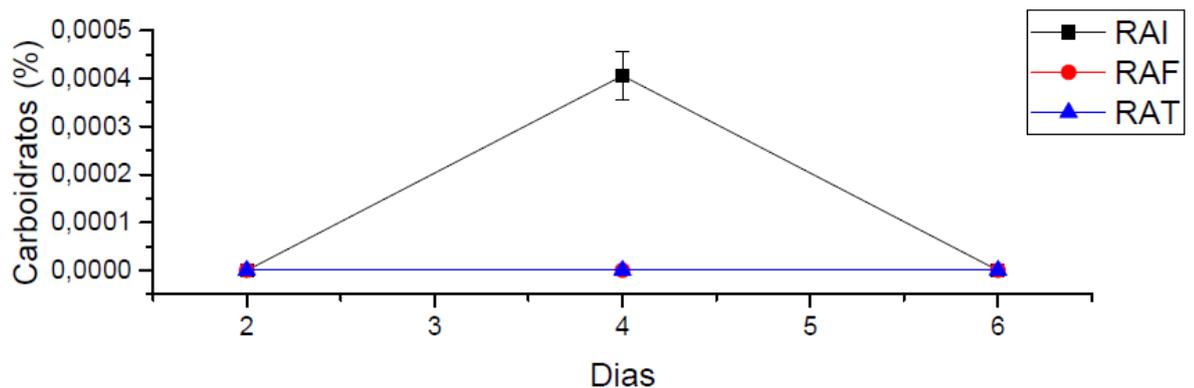
Gráfico 3- Quantificação de proteínas da matriz extracelular de biofilmes formados nas diferentes resinas a partir de saliva humana ao longo do tempo.



(RAT = resina acrílica termopolimerizável; RAF = resina odontológica de fabricação subtrativa – fresada; RAI = resina odontológica de fabricação aditiva – impressa)

Já a dosagem de carboidratos da matriz extracelular somente foi detectada para o grupo RAI ao quarto dia de acompanhamento, como mostrado no gráfico 4 (DUBOIS *et al.*, 1956).

Gráfico 4- Contagem total de carboidratos da matriz extracelular aderida nas diferentes resinas a partir de saliva humana ao longo do tempo

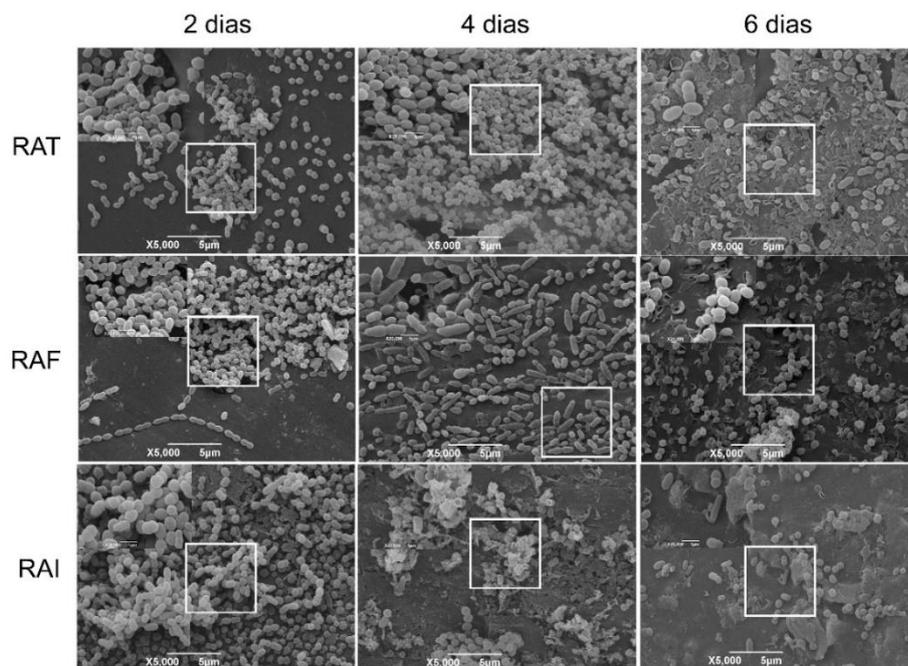


(RAT = resina acrílica termopolimerizável; RAF = resina odontológica de fabricação subtrativa – fresada; RAI = resina odontológica de fabricação aditiva – impressa).

4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A avaliação qualitativa no MEV permitiu verificar que a presença de biofilmes derivados de saliva é diferente de acordo com o tipo de resina estudada e a quantidade de dias avaliados. Quando se avalia o tempo de contato das resinas com os microrganismos da saliva, independentemente da resina estudada, a quantidade celular bacteriana é maior aos quatro dias do que aos 2 e 6 dias, apesar de serem observados muitos debris celulares aos 6 dias de análise. Por outro lado, quando a comparação foi realizada entre os grupos de resinas, o grupo RAI apresentou maior quantidade de células bacterianas nos três momentos estudados, apesar de no grupo RAF poder ser observado maior diversidade de morfotipos celulares, especialmente aos 4 dias de avaliação. Apesar deste último ponto, a morfologia de cocos é predominante em todas as resinas e em todos os tempos estudados (Figura 2).

Figura 6: Fotomicrografia em MEV, com magnitudes de 5.000x e 20.000x, de biofilmes derivados de saliva formados na superfície dos três grupos de resinas, nos tempos de 2, 4 e 6 dias de acompanhamento.



(RAT = resina acrílica termopolimerizável, RAF = resina odontológica de fabricação subtrativa - fresada , e RAI = resina odontológica de fabricação aditiva – impressa)

5 DISCUSSÃO

Qualquer estrutura que apresente uma superfície exposta ao ambiente bucal será recoberta pela película adquirida e esta, por sua vez, colonizada por diferentes microrganismos. Isto aplica-se tanto para os tecidos orgânicos quanto para os materiais odontológicos e até mesmo pode contribuir para falhas dos materiais (VERMA, GARG e DUBEY, 2018; STERZENBACH *et al.*, 2020). Conseqüentemente, a procura de alternativas que limitem e modulem a fixação e/ou crescimento de microrganismos torna-se imprescindível (STERZENBACH *et al.*, 2020). Neste contexto, diversas mudanças envolvendo a confecção de placas estabilizadoras oclusais ocorreram nos últimos anos, acompanhando o atual cenário da Odontologia - caracterizado pela associação da tecnologia digital e de novos materiais odontológicos (BENLI *et al.*, 2020). Tais mudanças fazem com que a compreensão de fatores que influenciem o processo de adesão de microrganismos torne-se uma etapa fundamental para compreensão dos materiais a serem utilizados (ZHENG *et al.*, 2021; WUERSCHING *et al.*, 2023). Para tanto, no presente estudo, foi realizada a análise de propriedades da superfície de resinas termopolimerizáveis, fresadas e impressas, assim como, realizados ensaios para avaliação da formação de biofilmes derivados da saliva humana.

Desta forma, considerando-se a propriedade relativa à energia livre de superfície, esta pode ser quantificada pelo ângulo de contato. Geralmente, uma superfície sólida com ângulo de contato $< 90^\circ$ é considerada hidrofílica (alta energia livre de superfície) e uma com ângulo de contato $> 90^\circ$ é considerada hidrofóbica (baixa energia livre de superfície) (LI *et al.*, 2021). Desta forma, em alguns casos da prática odontológica contemporânea, superfícies com alta energia livre podem ser desejadas, como por exemplo para selantes dentários, restaurações menos propensas a microinfiltrações marginais, fixação de próteses fixas e colagem de aparelhos ortodônticos. Entretanto, também pode ser levantada a hipótese de que materiais restauradores com baixa energia superficial serão mais capazes de resistir à formação de biofilmes (COMBE, OWEN e HODGES, 2004). Isto posto, a identificação daqueles com alto valor de energia livre de superfície pode ser um guia prático para evitar tais materiais quando as condições para manter a higiene da cavidade oral são desfavoráveis (LIBER-KNEĆ e ŁAGAN, 2021). Em nosso estudo, por meio da mensuração da energia livre de superfície, foi possível observar que a

resina impressa (grupo RAI) apresentou a maior energia livre de superfície quando comparada às resinas fresada e termopolimerizável convencional, sendo caracterizada entre tais materiais com o maior potencial hidrofílico. Resultado este que foi diferente ao encontrado por Schubert *et al.*, em 2021, onde a resina impressa apresentou os maiores valores de ângulo de contato, seguida da resina fresada e da resina termopolimerizável, diferença esta que pode ser justificada pela composição individual dos materiais. Embora todas as resinas avaliadas fossem à base de polimetilmetacrilato, a composição individual do material pode variar em termos do tipo de iniciador e aditivo, bem como do conteúdo de monômeros residuais, o que pode afetar as propriedades biológicas (SCHUBERT *et al.*, 2021).

A rugosidade superficial também se relaciona com a retenção de microrganismos, tendo sido demonstrado que a *Candida albicans*, caracterizada como uma levedura oportunista, coloniza vários materiais dentários, incluindo aqueles à base de resinas. As diferenças na quantidade de fungos aderentes podem estar relacionadas à rugosidade da superfície, à hidrofobicidade e ao tipo de matriz (BÜRGERS *et al.*, 2009). Guimarães *et al.*, em 2023, constataram em seu estudo, que a resina fresada apresentou os maiores valores de rugosidade (0.1µm), seguida da resina impressa (0.15µm). A resina acrílica termopolimerizável apresentou os menores valores de rugosidade (0.09µm), não sendo encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Indo ao encontro do estudo anterior, na presente análise, foi possível observar que a resina fresada apresentou os maiores valores de rugosidade (16.1µm), seguida pela resina impressa (13.8µm) e pela resina termopolimerizável (13,3µm). Por não haver padronização no polimento, a variável rugosidade é bastante inconsistente na literatura, resultando em valores médios divergentes entre os estudos (GOIATO *et al.*, 2012), como é possível observar comparando-se estes valores de rugosidade encontrados com aqueles apresentados por outras pesquisas.

Para minimizar a rugosidade superficial dos materiais odontológicos, o polimento é realizado em diversas etapas em laboratório ou em consultório (ESLEMEZ TOPCU *et al.*, 2022). Contudo, o polimento laboratorial (após a fresagem ou polimerização) e o polimento em consultório (após a adaptação e ajuste oclusal) podem ter diferentes graus de eficácia (MATZINGER *et al.*, 2019). No presente estudo, o acabamento e polimento dos materiais (RAT, RAF e RAI) foram realizados de forma similar nos três grupos avaliados, sendo que todas estas etapas foram realizadas por

um único operador para evitar variabilidades. Técnicas similares foram realizadas nos estudos de Murat *et al.*, 2019 e Sultana *et al.*, 2023. A padronização da técnica entre os grupos foi adotada, uma vez que a rugosidade superficial pode ser padronizada pela técnica de polimento, mesmo utilizando distintos materiais (GUIMARAES *et al.*, 2023).

Entretanto, deve-se citar que materiais perfeitamente acabados e polidos também podem apresentar textura superficial irregular. A principal razão pode estar relacionada à composição físico-química do material, reforçando a hipótese de que alguns componentes impedem a criação de uma superfície polida perfeita (VULOVIĆ *et al.*, 2022).

O estudo do biofilme microbiano e de sua matriz extracelular é um dos campos de pesquisa mais importantes da atualidade (ROY *et al.*, 2018). Este é influenciado pela saliva, a qual desempenha um papel essencial na formação e manutenção do equilíbrio ecológico da microbiota oral residente (LYNGE PEDERSEN e BELSTRØM, 2019). A complexa interação entre hospedeiro - saliva - microbiota oral torna-se evidente quando o fluxo salivar é reduzido e sua composição é alterada, levando à disbiose e ao risco de doenças bucais associadas (LYNGE PEDERSEN e BELSTRØM, 2019). A determinação de como a saliva altera os padrões de crescimento e a formação de biofilme, bem como a condição ideal de crescimento, pode elucidar importantes observações (CHOI *et al.*, 2023). Contudo, a caracterização da microbiota oral quando realizada em meio artificial pode acarretar na compreensão enviesada de distintos fatores, uma vez que microrganismos orais são tipicamente de crescimento lento e nutricionalmente exigentes, não crescendo muitas vezes neste tipo de ambiente (WADE, 2013). Desta forma, a mistura de saliva humana e o uso de meios de laboratório tornam-se uma alternativa recomendada em estudos *in vitro*. Embora estes não reproduzam inteiramente as condições *in vivo*, permitem testes e procedimentos de amostragem semelhantes, oferecendo uma alternativa a vários meios de saliva artificial (CHOI *et al.*, 2023). Portanto, no presente estudo, optou-se pela utilização de microrganismos oriundos de saliva humana em detrimento a culturas isoladas, além de ter sido utilizado o meio de cultura BHI, o qual é reconhecidamente um meio enriquecido capaz de suportar o crescimento de grande parte dos microrganismos bucais, incluindo microrganismos fastidiosos.

No presente estudo, foi possível observar que a resina fresada (RAF) apresentou menor acúmulo de biofilme nos três tempos avaliados e a impressa (RAI)

o maior, sendo observado um crescimento significativo de microrganismos a partir do quarto dia. Corroborando os resultados encontrados, Shubert *et al.* (2021) verificou que as novas tecnologias CAD/CAM interferem na suscetibilidade das resinas de placas oclusais à aderência de *Candida albicans* e que os materiais destinados à fresagem tendem a apresentar menor porosidade comparados aos materiais à base de resinas acrílicas termopolimerizáveis e autopolimerizáveis. Ainda, segundo estes autores, em materiais de resina impressos em 3D (CAM), ranhuras microscópicas também podem ser encontradas na interface das camadas formadas durante o processo de fabricação.

Aprofundando no estudo de formação de biofilmes, sabe-se que a manutenção e resistência destes às adversidades são fortemente influenciados pela quantidade de matriz extracelular presente. A matriz extracelular no biofilme está relacionada a várias funções, entre as quais se destacam a proteção às células que nela estão embebidas e reserva de nutrientes (DRAGOŠ e KOVÁCS, 2017). Proteínas e glicoproteínas presentes em sua composição são as principais fontes de nutrição para os microrganismos orais (DAWES e WONG, 2019). Os resultados da análise de matriz extracelular corroboram os resultados da quantificação de biofilme formado nas diferentes resinas, em que tanto a dosagem de proteínas quanto a de carboidratos não foram detectadas para o grupo de resina fresada (RAF), justamente o grupo que apresentou menor formação de biofilme. Já no grupo da resina impressa (RAI) foi possível quantificar esses dois parâmetros da matriz extracelular, especialmente no quarto dia de avaliação, o que ratifica os resultados anteriores de maior formação de biofilme. Nos tempos em que não foi possível detectar tanto carboidrato quanto proteínas na matriz extracelular, estima-se que a quantidade dos biofilmes formados foi realmente muito pequena, visto que os métodos utilizados são, segundo a literatura, muito sensíveis. O método de dosagem de carboidrato utilizado apresenta nível de sensibilidade de 1-150 nmol de carboidrato (MASUKO *et al.*, 2005) e o de proteína 0,7 mg.L⁻¹ (WILSON e WALKER, 2000). Importante destacar que, até o presente momento, não foram encontrados estudos que realizaram ensaio de matriz extracelular em materiais de confecção de placas estabilizadoras oclusais, sendo este estudo considerado pioneiro.

A avaliação qualitativa realizada em MEV reforça o que foi identificado nos ensaios anteriores, tendo o grupo RAI se destacado com relação à presença de células bacterianas, independente do tempo de avaliação. Entretanto, o MEV nos

permite ainda verificar que embora para uma mesma resina o biofilme aumente conforme o tempo avaliado, observa-se que no tempo de seis dias muitas células já estão mortas. Esta observação é importante para complementar os resultados do ensaio de formação de biofilme. Neste, obtém-se o quantitativo total do biofilme por densidade ótica, não fazendo menção sobre a viabilidade/integridade das células presentes. Portanto, pela observação do MEV (Figura 2), é possível dizer que, considerando o número de células íntegras presentes, o biofilme aumenta aos quatro dias comparativamente ao tempo de dois dias, mas aos 6 dias, há uma redução dessas células. Isto pode ser devido à restrição nutricional necessária para a viabilidade de todas as células e à dessecação sofrida devido ao ambiente, já que após cada período de 12 horas em contato com meio nutritivo é seguido um período de 12 horas à temperatura ambiente, simulando os períodos de alternância entre uso em boca e armazenamento em estojo acrílico apropriado. Importante observar que os corpos de prova foram mantidos à temperatura ambiente sem estarem imersos em qualquer fluido, incluindo água, o que poderia influenciar na viabilidade celular microbiana, entretanto isso não significa que o potencial patogênico do biofilme tenha diminuído.

Ainda, considerando a avaliação em MEV, observa-se maior quantidade de matriz extracelular na resina impressa, no período de 4 e 6 dias, e na resina termopolimerizável, no período de 6 dias. Tal fato reforça os achados do ensaio da avaliação de matriz pela quantificação de carboidratos e proteínas totais.

Por fim, apesar da morfologia celular bacteriana do tipo cocos predominar em todas as análises da MEV, a resina fresada se destaca em relação aos outros grupos, apresentando diversidade de morfotipos celulares. Sabe-se que os primeiros colonizadores da cavidade bucal e iniciadores dos biofilmes bucais são *cocos* Gram-positivos, com destaque para espécies do gênero *Streptococcus* e, à medida que o biofilme amadurece, a diversidade microbiana aumenta (SCHUBERT *et al.*, 2021). Este fato pode também ser justificada pelo fato de que superfícies com elevada rugosidade relacionam-se com a maior retenção de microrganismos, uma vez que as bactérias tornam-se mais protegidas contra forças de cisalhamento (BOLLEN, LAMBRECHTS e QUIRYNEN, 1997).

Ressalta-se que a compreensão dos fatores que influenciam a adesão microbiana à superfície dos materiais utilizados para a confecção de placas estabilizadoras oclusais não se encerram neste estudo. Sugere-se que pesquisas

clínicas sejam conduzidas considerando os fatores individuais que possivelmente possam influenciar no processo de adesão microbiana, tais como, tempo de uso diário do dispositivo e fluxo salivar do paciente. Sob outra perspectiva, sugere-se também que os materiais sejam analisados utilizando-se protocolos de polimento realizados em ambiente clínico e que a adesão microbiana possa ser avaliada considerando a microbiota residente.

6 CONCLUSÃO

A resina a base de polimetilmetacrilato impressa obteve a maior tendência de acúmulo de biofilme e produção de matriz extracelular em todos os períodos de acompanhamento do estudo, bem como, a maior característica hidrofílica e de energia livre de superfície, reforçando que a adesão microbiana à superfície de placas estabilizadoras oclusais pode ser influenciada pelas propriedades de superfície dos materiais utilizados.

REFERÊNCIAS

- ABAD-CORONEL, C.; RUANO ESPINOSA, C.; ORDÓÑEZ PALACIOS, S.; PALTÁN, C. A. *et al.* Comparative Analysis between Conventional Acrylic, CAD/CAM Milled, and 3D CAD/CAM Printed Occlusal Splints. **Materials**, 16, n. 18, p. 6269, 2023.
- AL-ANI, Z.; GRAY, R. J.; DAVIES, S. J.; SLOAN, P. *et al.* Stabilization splint therapy for the treatment of temporomandibular myofascial pain: a systematic review. **J Dent Educ**, 69, n. 11, p. 1242-1250, Nov 2005.
- ALRABEAH, G.; SHABIB, S.; ALMOMEN, R.; ALHEDEITHI, N. *et al.* Effect of Home Bleaching on the Optical Properties and Surface Roughness of Novel Aesthetic Dental Ceramics. **Coatings**, 13, n. 2, p. 330, 2023.
- ALRIZQI, A. H.; ALEISSA, B. M. Prevalence of Temporomandibular Disorders Between 2015-2021: A Literature Review. **Cureus**, 15, n. 4, p. e37028, Apr 2023.
- BENLI, M.; EKER GÜMÜŞ, B.; KAHRAMAN, Y.; GÖKÇEN-ROHLIG, B. *et al.* Surface roughness and wear behavior of occlusal splint materials made of contemporary and high-performance polymers. **Odontology**, 108, n. 2, p. 240-250, Apr 2020.
- BERNTSEN, C.; KLEVEN, M.; HEIAN, M.; HJORTSJÖ, C. Clinical comparison of conventional and additive manufactured stabilization splints. **Acta biomaterialia odontologica Scandinavica**, 4, n. 1, p. 81-89, 2018.
- BOLLEN, C. M.; 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**, 13, n. 4, p. 258-269, Jul 1997.
- BÜRGERS, R.; SCHNEIDER-BRACHERT, W.; ROSENTRITT, M.; HANDEL, G. *et al.* Candida albicans adhesion to composite resin materials. **Clin Oral Investig**, 13, n. 3, p. 293-299, Sep 2009.
- CHOI, A.; DONG, K.; WILLIAMS, E.; PIA, L. *et al.* Human Saliva Modifies Growth, Biofilm Architecture and Competitive Behaviors of Oral Streptococci. **bioRxiv**, 2023.
- COMBE, E. C.; OWEN, B. A.; HODGES, J. S. A protocol for determining the surface free energy of dental materials. **Dent Mater**, 20, n. 3, p. 262-268, Mar 2004.
- CROUT, D. K. Anatomy of an occlusal splint. **Gen Dent**, 65, n. 2, p. 52-59, Mar-Apr 2017.
- DAS, A.; PATRO, S.; SIMNANI, F. Z.; SINGH, D. *et al.* Biofilm modifiers: The disparity in paradigm of oral biofilm ecosystem. **Biomed Pharmacother**, 164, p. 114966, Aug 2023.
- DAWES, C.; WONG, D. Role of saliva and salivary diagnostics in the advancement of oral health. **Journal of dental research**, 98, n. 2, p. 133-141, 2019.
- DE PAULA LOPEZ, V.; DIAS CORPA TARDELLI, J.; BOTELHO, A. L.; MARCONDES AGNELLI, J. A. *et al.* Mechanical performance of 3-dimensionally printed resins compared

with conventional and milled resins for the manufacture of occlusal devices: A systematic review. **J Prosthet Dent**, Jan 9 2023.

DRAGOŠ, A.; KOVÁCS, Á. T. The peculiar functions of the bacterial extracellular matrix. **Trends in microbiology**, 25, n. 4, p. 257-266, 2017.

ESLEMEZ TOPCU, E.; ŞAHIN, O.; KÖROĞLU, A.; CÖMERT, F. *et al.* Surface roughness and *Streptococcus mutans* adhesion on surface sealant agent coupled interim crown materials after dynamic loading. **BMC Oral Health**, 22, n. 1, p. 299, Jul 19 2022.

GOIATO, M. C.; DOS SANTOS, D. M.; MORENO, A.; IYDA, M. G. *et al.* Effect of disinfection and storage on the flexural strength of ocular prosthetic acrylic resins. **Gerodontology**, 29, n. 2, p. e838-844, Jun 2012.

GRYMAK, A.; AARTS, J. M.; MA, S.; WADDELL, J. N. *et al.* Comparison of hardness and polishability of various occlusal splint materials. **J Mech Behav Biomed Mater**, 115, p. 104270, Mar 2021.

GUERRERO-GIRONÉS, J.; LÓPEZ-GARCÍA, S.; PECCI-LLORET, M. R.; PECCI-LLORET, M. P. *et al.* In vitro biocompatibility testing of 3D printing and conventional resins for occlusal devices. **J Dent**, 123, p. 104163, Aug 2022.

GUIMARAES, D. M.; CAMPANER, M.; SANTOS, R. W. D.; PESQUEIRA, A. A. *et al.* Evaluation of the mechanical properties of different materials for manufacturing occlusal splints. **Braz Oral Res**, 37, p. e034, 2023.

HJERPPE, J.; RODAS, S.; KORVALA, J.; PESONEN, P. *et al.* Surface roughness and *streptococcus mutans* adhesion on metallic and ceramic fixed prosthodontic materials after scaling. **Materials**, 14, n. 4, p. 1027, 2021.

KUZMANOVIC PFICER, J.; DODIC, S.; LAZIC, V.; TRAJKOVIC, G. *et al.* Occlusal stabilization splint for patients with temporomandibular disorders: Meta-analysis of short and long term effects. **PLoS One**, 12, n. 2, p. e0171296, 2017.

LI, C.; LI, M.; NI, Z.; GUAN, Q. *et al.* Stimuli-responsive surfaces for switchable wettability and adhesion. **J R Soc Interface**, 18, n. 179, p. 20210162, Jun 2021.

LIBER-KNEĆ, A.; ŁAGAN, S. Surface Testing of Dental Biomaterials-Determination of Contact Angle and Surface Free Energy. **Materials (Basel)**, 14, n. 11, May 21 2021.

LYNGE PEDERSEN, A. M.; BELSTRØM, D. The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. **J Dent**, 80 Suppl 1, p. S3-s12, Jan 2019.

MASUKO, T.; MINAMI, A.; IWASAKI, N.; MAJIMA, T. *et al.* Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. **Analytical biochemistry**, 339, n. 1, p. 69-72, 2005.

MATZINGER, M.; HAHNEL, S.; PREIS, V.; ROSENTRITT, M. Polishing effects and wear performance of chairside CAD/CAM materials. **Clin Oral Investig**, 23, n. 2, p. 725-737, Feb 2019.

MELO, G.; DUARTE, J.; PAULETTO, P.; PORPORATTI, A. L. *et al.* Bruxism: An umbrella review of systematic reviews. **J Oral Rehabil**, 46, n. 7, p. 666-690, Jul 2019.

NASSIF, M.; HADDAD, C.; HABLI, L.; ZOGHBY, A. Materials and manufacturing techniques for occlusal splints: A literature review. **J Oral Rehabil**, 50, n. 11, p. 1348-1354, Nov 2023.

POPESCU, A. D.; TUCULINA, M. J.; DIACONU, O. A.; GHEORGHITĂ, L. M. *et al.* Effects of Dental Bleaching Agents on the Surface Roughness of Dental Restoration Materials. **Medicina (Kaunas)**, 59, n. 6, Jun 1 2023.

QUIRYNEN, M.; VOGELS, R. [Clinical relevance of surface characteristics on the formation of plaque on teeth and implants]. **Nederlands tijdschrift voor tandheelkunde**, 109, n. 11, p. 422-429, 2002/11// 2002.

ROY, R.; TIWARI, M.; DONELLI, G.; TIWARI, V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**, 9, n. 1, p. 522-554, Jan 1 2018.

SANTOS, E. O.; OLIVEIRA, P. L. E.; DE MELLO, T. P.; DOS SANTOS, A. L. S. *et al.* Surface characteristics and microbiological analysis of a vat-photopolymerization additive-manufacturing dental resin. **Materials**, 15, n. 2, p. 425, 2022.

SCHUBERT, A.; BÜRGERS, R.; BAUM, F.; KURBAD, O. *et al.* Influence of the Manufacturing Method on the Adhesion of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* to Oral Splint Resins. **Polymers (Basel)**, 13, n. 10, May 11 2021.

STERZENBACH, T.; HELBIG, R.; HANNIG, C.; HANNIG, M. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. **Clin Oral Investig**, 24, n. 12, p. 4237-4260, Dec 2020.

VÄYRYNEN, V. O.; TANNER, J.; VALLITTU, P. K. The anisotropy of the flexural properties of an occlusal device material processed by stereolithography. **J Prosthet Dent**, 116, n. 5, p. 811-817, Nov 2016.

VERMA, D.; GARG, P. K.; DUBEY, A. K. Insights into the human oral microbiome. **Arch Microbiol**, 200, n. 4, p. 525-540, May 2018.

VULOVIĆ, S.; TODOROVIĆ, A.; STANČIĆ, I.; POPOVAC, A. *et al.* Study on the surface properties of different commercially available CAD/CAM materials for implant-supported restorations. **J Esthet Restor Dent**, 34, n. 7, p. 1132-1141, Oct 2022.

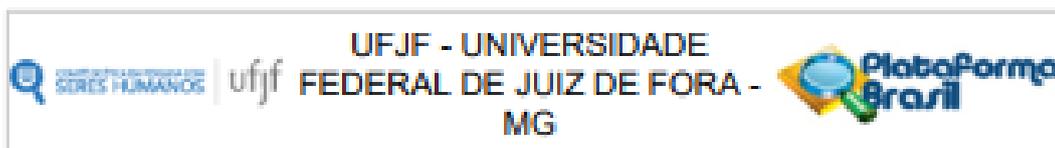
WADE, W. G. Characterisation of the human oral microbiome. **Journal of Oral Biosciences**, 55, n. 3, p. 143-148, 2013.

WILSON, K.; WALKER, J. **Principles and techniques of practical biochemistry**. Cambridge University Press, 2000. 052165873X.

WUERSCHING, S. N.; WESTPHAL, D.; STAWARCZYK, B.; EDELHOFF, D. *et al.* Surface properties and initial bacterial biofilm growth on 3D-printed oral appliances: a comparative in vitro study. **Clin Oral Investig**, 27, n. 6, p. 2667-2677, Jun 2023.

ZHENG, S.; BAWAZIR, M.; DHALL, A.; KIM, H. E. *et al.* Implication of Surface Properties, Bacterial Motility, and Hydrodynamic Conditions on Bacterial Surface Sensing and Their Initial Adhesion. **Front Bioeng Biotechnol**, 9, p. 643722, 2021.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS SUPERFICIAIS DE MATERIAIS EMPREGADOS PARA CONFEÇÃO DE PLACAS ESTABILIZADORAS OCLUSAIS E SUA INFLUÊNCIA À ADESÃO MICROBIANA

Pesquisador: RAFAELA LADEIRA BONATO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 61384922.7.0000.5147

Instituição Proponente: Universidade Federal de Juiz de Fora UFJF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.658.855

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas neste campo foram retiradas do arquivo "Informações Básicas do Projeto". "Trata-se de um estudo comparativo in vitro para análise da colonização microbiana à superfície de diferentes materiais utilizados para confecção de placas estabilizadoras oclusais, bem como, para análise das características de superfície destes materiais".

Objetivo da Pesquisa:

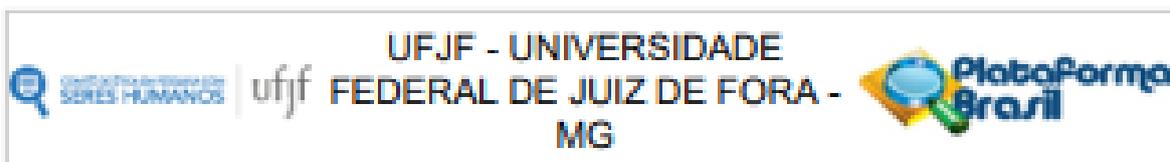
As informações elencadas neste campo foram retiradas do arquivo "Informações Básicas do Projeto". "Objetivo Primário: Investigar a adesão de microrganismos salivares na superfície de diferentes materiais empregados para a confecção de placas estabilizadoras oclusais, como resinas impressas digitalmente, resinas fresadas a partir da tecnologia CAD/CAM e resinas acrílicas termopolimerizáveis convencionais. Objetivo Secundário:

Avaliar as características superficiais dos mesmos materiais utilizados para a confecção de placas estabilizadoras oclusais, utilizando métodos de análise da rugosidade, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de análise da energia livre de superfície".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

As informações elencadas neste campo foram retiradas do arquivo "Informações Básicas do Projeto". "Riscos: Esta pesquisa apresenta risco mínimo aos participantes, o qual está associado à possibilidade de quebra de sigilo e de constrangimento durante a coleta da saliva. Para evitar a

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAC PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3798 E-mail: cep.prop@ufjf.br



Continuação do Projeto: 5.468.855

possibilidade de quebra de sigilo, o material coletado não deverá conter nenhuma identificação do participante. Para evitar possíveis constrangimentos para a coleta da saliva, o participante será inicialmente instruído pela equipe da pesquisa sobre como realizar esta coleta e deverá a ele ser reservado um espaço onde não exista a presença de outras pessoas no local durante a coleta do material, nem mesmo dos integrantes da pesquisa. Benefícios: Esta pesquisa oferece benefícios indiretos, a partir do momento que seus dados poderão indicar quais materiais utilizados para a confecção de placas estabilizadoras oclusais são mais biocompatíveis ao ambiente oral, possibilitando a disseminação destas informações aos profissionais que confeccionam tais dispositivos rotineiramente nas suas atividades clínicas e auxiliando na sua escolha quanto ao melhor tipo de material disponível para evitar a proliferação de microrganismos causadores de cárie e/ou candidíase oral nos indivíduos que fazem uso destes aparelhos diariamente.

Além disso, baseado nos resultados alcançados, o material mais adequado e biocompatível para a confecção de placas estabilizadoras oclusais poderá ser selecionado para possível tratamento dos próprios participantes desta pesquisa, ofertando-lhes algum benefício direto também”.

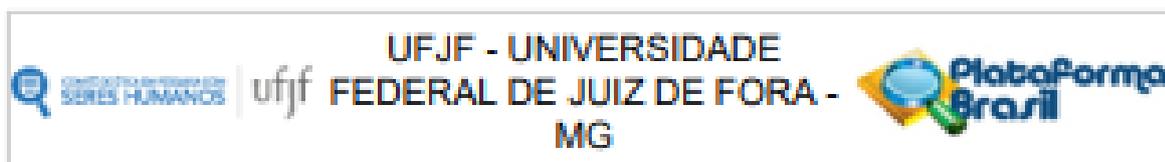
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16. Apresenta o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO em linguagem clara para compreensão dos participantes, apresenta justificativa e objetivo, campo para identificação do participante, descreve de forma suficiente os procedimentos, informa que uma das vias do TCLE será entregue aos participantes, assegura a liberdade do participante recusar ou refinar o consentimento sem penalidades, garante sigilo e anonimato, explicita riscos e desconfortos esperados, indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, contato do pesquisador e do CEP e informa que os dados da pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador pelo período de cinco anos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 E-mail: cep.propri@ufjf.br



Continuação do Parecer: 5.658.855

466 de 2012, itens: IV letra b; IV.3 letras a, b, d, e, f, g e h; IV. 5 letra d e XI.2 letra f. Apresenta o INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS de forma pertinente aos objetivos delineados e preserva os participantes da pesquisa. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CEPs. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: 08/09/2023.

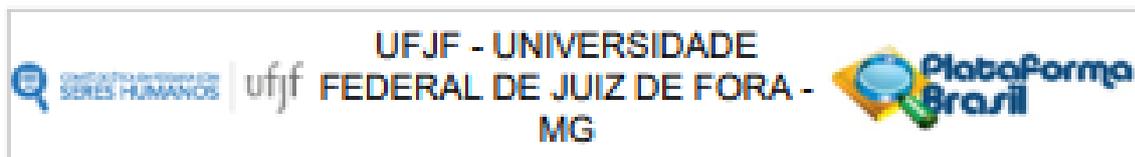
Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1985282.pdf	05/09/2022 22:50:10		Aceito
TCLE / Termo de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	05/09/2022 20:38:06	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	MODELO_PROJETO_DETALHADO.pdf	05/09/2022 20:37:44	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Outros	Curriculo_William_Simoes_de_Oliveira.pdf	09/08/2022 14:44:48	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Outros	Curriculo_Rodrigo_Simoes_de_Oliveira	09/08/2022	RAFAELA LADEIRA	Aceito

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER, S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2103-3788 E-mail: cep.prop@ufjf.br



Continuação do Parecer: 5.658.855

Outros	a.pdf	14:44:19	BONATO	Aceito
Outros	Curriculo_Mariana_Simoes_de_Oliveira.pdf	09/08/2022 14:43:57	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Outros	Curriculo_Ana_Carolina_Morais_Apolonio.pdf	09/08/2022 14:43:34	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Outros	Curriculo_Laiza_Araujo_Cortines_Laxe.pdf	09/08/2022 14:42:42	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Outros	Curriculo_Rafaela_Ladeira_Bonato.pdf	09/08/2022 14:42:00	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	25/07/2022 11:21:12	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_de_infraestrutura.pdf	25/07/2022 11:19:44	RAFAELA LADEIRA BONATO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 22 de Setembro de 2022

Assinado por:

Patrícia Aparecida Baumgratz de Paula
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 35.035-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)3102-3788

E-mail: cep.propp@ufjf.br



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostariamos de convidar você a participar como voluntário (a) da pesquisa "Análise das características superficiais de materiais empregados para confecção de placas estabilizadoras oclusais e sua influência à adesão microbiana". O motivo que nos leva a realizar esta pesquisa é investigar como as características de materiais odontológicos utilizados na confecção de aparelhos móveis intra-bucal podem influenciar na adesão de microorganismos e desta forma observar quais se comportam de maneira a causar o mínimo de danos na boca. Nesta pesquisa pretendemos investigar a adesão de fungos e bactérias causadoras de infecção sobre a superfície de diferentes materiais.

Caso você concorde em participar, coletaremos um pouco de sua saliva, a qual será coletada e armazenada, até a sua utilização, em um tubo coletor próprio muito utilizado em laboratório de análises clínicas. Após a conclusão dos testes laboratoriais, sua saliva será descartada. Esta pesquisa oferece os seguintes riscos mínimos a você, possibilidade de identificação como participante e constrangimento para a coleta de saliva. Mas, para diminuir a chance desses riscos acontecerem, o material coletado não terá nenhuma identificação sua e para evitar possíveis constrangimentos durante a coleta de saliva, você terá um espaço reservado somente para você realizar a coleta de sua saliva. Esta pesquisa pode ajudar cirurgiões dentistas a determinarem quais materiais odontológicos utilizados na confecção de placas estabilizadoras oclusais apresentam características que causem os menores danos ao ambiente bucal, auxiliando na determinação do material disponível mais adequado para evitar a proliferação de microorganismos causadores de doenças bucais.

Para participar deste estudo você não vai ter nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, se você tiver algum dano por causa das atividades que fizermos com você nesta pesquisa, você tem direito a buscar indenização. Você terá todas as informações que quiser sobre esta pesquisa e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Mesmo que você queira participar agora, você pode voltar atrás ou parar de participar a qualquer momento. A sua participação é voluntária e o fato de não querer participar não vai trazer qualquer penalidade ou mudança na forma em que você é atendido (a). O pesquisador não vai divulgar seu nome. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Os dados coletados na pesquisa serão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos. Decorrido este tempo, o pesquisador avaliará os documentos para a sua destinação final, de acordo com a legislação vigente. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Declaro que concordo em participar da pesquisa e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20__

Assinatura do Participante

Assinatura do (a) Pesquisador (a)

Nome do Pesquisador Responsável: Rafaela Letícia Bonato
Campus Universitário da UFJF
Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora
CEP: 36208-900
Fone: (32) 2102-3851
E-mail: bonato.rafaela@estudante.ufjf.br

Nome do Participante da pesquisa ou responsável: _____
Nome do pesquisador: _____

O CEP avalia protocolos de pesquisa que envolvem seres humanos, realizando um trabalho cooperativo que visa, especialmente, à proteção dos participantes de pesquisa do

Brasil. Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos - UFJF
Campus Universitário da UFJF

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
CEP: 36208-900

Fone: (32) 2102-3788 / E-mail: cep.prop@ufjf.edu.br