



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00923**

(22) Data de depozit: **13/11/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**28/12/2018** BOPI nr. **12/2018**

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE "CAROL DAVILA"  
BUCUREȘTI, STR. DIONISIE LUPU, NR.37,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN  
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI  
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• DDX EUROPA S.R.L.,  
STR. DR. NICOLAE STAICOVICI NR.15,  
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• CRISTACHE CORINA MARILENA,  
ȘOS. OLTENIȚEI, NR. 257N, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• TOTU EUGENIA, STR.MĂGURICEA,  
NR. 20, BL.7P, AP. 13, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• NECHIFOR GHEORGHE,  
ALEEA SLĂȚIOARA NR.4, BL.C 2, SC.2,  
ET.1, AP.19, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• DIDILESCU ANDREEA CRISTIANA,  
STR.IOVIȚA, NR.2, BL.P24, AP.32,  
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;  
• NECHIFOR AURELIA CRISTINA,  
ALEEA SLĂȚIOARA, NR.4, BL.C2, AP.19,  
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **POLI(METIL METACRILAT) CU NANOINCLUZIUNI DE DIOXID DE TITAN, PENTRU OBTINEREA PROTEZELOR DENTARE PRIN TEHNICA STEREOLITOGRAFICĂ**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un material nanocompozit și la un procedeu de obținere a acestuia, utilizat în confecționarea protezelor dentare prin tehnologia stereolitografică. Materialul, conform invenției, este pe bază de poli(metil metacrilat) și 0,4% în procente masice nanoparticule de dioxid de titan, având o structură morfologică uniformă, acțiune antibacterială, fără efect citotoxic. Procedeu, conform invenției, constă în realizarea matricei polimerice din soluție de polimetil metacrilat în

amestec cu polietil metacrilat în prezență de peroxid de benzoil și amestecarea materialului de bază cu 0,4% nanoparticule de dioxid de titan sub agitare magnetică continuă la temperatura ambientală, rezultând un nanocompozit având caracteristici mecanice și termice îmbunătățite adecvate pentru printarea 3D.

Revendicări: 3  
Figuri: 9



60

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. a	2017 00923
Data depozit	13-11-2017

## DESCRIEREA INVENȚIEI

### POLI(METILMETACRILAT) CU NANOINCULZIUNI DE DIOXID DE TITAN PENTRU OBTINEREA PROTEZELOR DENTARE PRIN TEHNOLOGIA STEREOLITOGRAFICĂ

*Autori:* Corina Marilena Cristache, Eugenia Totu, Gheorghe Nechifor, Andreea Cristiana Didilescu, Aurelia Cristina Nechifor

Urmare a creșterii speranței de viață și implicit a numărului vârstnicilor, politicile de sănătate din țările europene se concentrează din ce în ce mai mult pe îmbunătățirea serviciilor medicale adresate acestei categorii de populație. În același timp, așteptările persoanelor de vârstă a treia au crescut exponențial în ultima vreme, mai ales de la serviciile stomatologice - atunci când vine vorba de menținerea funcționalității și estetice (Cristache et al., 2016).

În ciuda măsurilor profilactice adoptate, majoritatea vârstnicilor prezintă edentații totale iar protocoalele curente pentru conceperea unui plan de tratament, producția și utilizarea materialelor pentru confecționarea protezelor dentare au rămas practic neschimbate în ultimii 40 de ani (Jacob, 1998; Wimmer et al., 2016).

Atât procedurile clinice cât și cele tehnice de confecționare a protezelor mobile rămân pline de neconcordanțe și imperfecțiuni legate direct de procesul clasic de manufacturare cât și de impreciziile materialelor. Dacă se adaugă la acestea și un număr necesar de 5-6 ședințe pentru confecționare și alte câteva pentru adaptare, se ajunge o situație neplăcută și cu consum mare de timp atât pentru pacient cât și pentru practician (Wimmer et al., 2016).

Inovațiile rapide în domeniul informaticii, nivelul ridicat de creativitate și înțelegere complexă a tehnologiei, precum și colaborarea interdisciplinară au făcut posibilă aplicarea noilor tehnici CAD-CAM (*Computer Aided Design & Manufacturing*) în medicina dentară.

Începând cu anul 2012 tehnica CAD-CAM (Van Noort, 2012) a fost disponibilă comercial și pentru fabricarea protezelor totale prin introducerea protezelor digitale **AvaDent** (Global Dental Science LLC, Scottsdale, Arizona, SUA & Tilburg, Olanda) și a sistemului **Dentca CAD-CAM System** (Dentca Inc., Los Angeles, California, SUA) (Kattadiyil et al., 2013). Primul proces - utilizat de sistemul AvaDent - constă în folosirea tehnicii substructive, respectiv frezarea bazei protezei într-un bloc prepolimerizat de PMMA. Baza protezei este prevăzută cu retenții pentru dinții prefabricați iar aceștia sunt lipiți ulterior cu ajutorul unui adeziv special. Cel de-al doilea proces (sistemul Dentca) folosește tehnica de printare, aditivă - stereolitografie - pentru a realiza o proteză de probă de culoare albă. Proteza totală finală este procesată convențional după efectuarea adaptărilor necesare.

**Avantajele tehnologiei CAD-CAM** în confecționarea protezelor totale sunt (Baba et al., 2015):

- Reducerea numărului de ședințe necesare de tratament la 2-3 - reprezintă un avantaj esențial pentru pacienții vârstnici care se deplasează greu sau aflați în centrele de îngrijire pentru bătrâni.
- Informațiile clinice sunt culese într-o ședință care poate dura în medie 1-2 ore iar înșeția protezei se poate realiza în următoarea ședință clinică. Va urma o nouă întâlnire pentru eventualele adaptări, rețușuri.
- Necesită un timp clinic mai redus pentru medic, deci costurile manoperei vor fi mai reduse comparativ cu protetica clasică.

- Toate informațiile colectate de la pacient sunt transformate în fișiere digitale și stocate. De asemeni **design-ul protezei este stocat în format digital**. În consecință, lucrarea protetică poate fi refăcută identic cu cea precedentă în caz deteriorare sau pierdere, fără a mai necesita prezența pacientului sau înregistrări clinice suplimentare.
- În cazul în care se intenționează inserția de implanturi dentare, informațiile obținute prin scanarea modelelor pot fi utilizate pentru confecționarea ghidului chirurgical.

Unul dintre **dezavantajele** majore ale ambelor tehnici prezentate anterior este **cerința de producție centralizată**, respectiv datele și amprentele sunt trimise la un laborator central din Statele Unite ale Americii pentru sistemul Dentca și în SUA sau Olanda pentru AvaDent. Proteza finală este fabricată și retrimisă ulterior clinicii dentare. Prin urmare, toate modificările sau ajustările eventual necesare implică timp și costuri suplimentare.

Tehnica aditivă stereolitografică (SLA) - foto-solidificare sau fabricare optică – este o prototipare rapidă (PR), definită de Lennings (Lennings, 2000) ca „procesul care creează automat prototipul fizic pornind de la un model 3D CAD, într-o scurtă perioadă de timp”.

Stereolitografia constă în utilizarea unui fascicul laser cu lumină ultravioletă pentru solidificarea unei rășini fotopolimerice lichide aflată într-o cuvă a imprimantei. Sub acțiunea luminii laser această rășină sensibilă la lumina ultravioletă se fotopolimerizează, solidificându-se în straturi succesive, obținându-se astfel modelul solid 3D (Ippolito et al., 1995).

Avantajele tehnologiei SLA (Cristache and Totu, 2016; Cristache et al., 2016):

- Obținerea unor **piese cu geometrii complexe și extrem de detaliate** (Anitha et al., 2001; Pennington et al., 2005), la o viteză de printare bună spre foarte bună (Sun, J and Zhang, 2012; Webb, 2000).
- Capacitatea de manufacturare a unor forme dentare personalizate nerestricționată de axele de frezaj sau limitele mașinii cum se întâmplă în situația tehnicilor substructive.
- Sistemul funcționează într-un mod stabil: o dată început procesul de construcție decurge în mod automat.
- Precizia este ridicată: ex. un fir de păr are un diametru de aproximativ 100 micrometri, iar precizia cu care se obțin obiectele prin acest procedeu are o marjă de eroare de 5 micrometri, garantând chiar o acuratețe dimensională de până la 1 micrometru (Kim and Oh, 2008).

Dezavantajele tehnologiei SLA cu materialele existente în prezent (Cristache and Totu, 2016):

- Rezistența medie la prelucrări mecanice, nedurabilitate în timp, necesită operațiuni de post-procesare.
- Durata de viață a tubului de laser heliu-cadmiu este de aproximativ 3,000 de ore, întreținerea este destul de scumpă, astfel costul de producție fiind relativ mare.
- Rășinile fotosensibile nu rezistă testelor termice și de durabilitate, prezentând o instabilitate în timp, pot provoca alergii.

**Pentru a compensa dezavantajele utilizării printării 3D în confecționarea protezelor totale, am realizat modificări atât în compoziția materialului prin adăugarea nanofilerilor cât și în tehnica de procesare.**

Polimerul biocompatibil, polimetil metacrilat, cunoscut sub numele de PMMA este foarte mult folosit în medicina stomatologică datorită proprietăților sale deosebite, precum: ușurința procesării (El Bahra et al., 2013) și reparării sale (Soygun et al., 2013), costul redus și

acceptabilitatea sa de către majoritatea pacienților, lipsa gustului și mirosului, transparența și de asemenea aspectul estetic satisfăcător (Vojdani et al., 2015).

În ciuda caracteristicilor sale incontestabile, există și aspecte negative în folosirea PMMA pentru realizarea protezelor dentare, cum ar fi: contracția în timpul polimerizării, rezistența mecanică limitată (Vojdani et al., 2015), contaminarea microbiană ca urmare a contactului permanent cu mediul oral agresiv (Williams et al., 2011), lipsa radio-opacității, sensibilizări ale pacienților ca urmare a eliberării de monomer nereticulat la contactul cu saliva (Gautam et al., 2012), precum și degradarea continuă a rezistenței mecanice ca urmare a acțiunii salivei umane (Akin et al., 2015). În contextul punctelor slabe ale acestui material versatil utilizat extensiv în medicina dentară, se impune ca necesară dezvoltarea unui compozit îmbunătățit folosind noile nano tehnologii. Întrucât PMMA este încă cel mai bun material pentru aplicațiile dentare, o soluție adecvată a fost considerată aceea în care chiar PMMA-ul se folosește ca și material inițial pentru dezvoltarea noului nanocompozit prin includerea unui nano aditiv care să îi îmbunătățească performanțele. Astfel, de interes major este obținerea unor caracteristici mecanice superioare, precum și o acțiune antimicrobiană susținută.

În ultimii ani, au fost studiate intens diferite nanocompozite cu acțiune antimicrobiană (Kubacka et al., 2014; Wady et al., 2012). Astfel, s-a dovedit că prin acoperiri cu filme subțiri de  $TiO_2$  este posibilă manifestarea unor caracteristici antibacteriene pronunțate (Ercan et al., 2011; Wang et al., 2014). Se poate spune că, nanoparticulele de dioxid de titan se recomandă singure ca o soluție optima pentru aditivarea polimerilor de uz dentar (Wang et al., 2014).

#### **Problema tehnică**

Polimetil metacrilat (PMMA, E-DENT 100®, Envisiontec GmbH, Gladbeck, Germania) fotopolimerizabil disponibil comercial pentru sistemul de fabricatie aditiv este special conceput pentru crearea restaurarilor **unidentare pe termen limitat** datorită lipsei de rezistență, riscului de alterare a proprietăților mecanice și contaminare bacteriană.

Materialul utilizat este adaptat și conceput pentru echipamentul DLPM (*Digital Light Projection Manufacturing* = fabricare prin proiecția digitală a luminii) dezvoltat de Envisiontec GmbH (Gladbeck, Germania) iar îmbunătățirea proprietăților lui nu va trebui să influențeze reticularea fotocatalizată.

În vederea realizării materialului nanocompozit **suficient de rezistent pentru confecționarea unei proteze totale cu utilizare îndelungată** s-au utilizat nanoparticule de oxid de titan obținute prin sintetiză solvo-hidro-termală din tetrabutilortitanat, și polimerul biocompatibil polimetil metacrilat la care au fost adăugați aditivi care să permită ulterior reticularea sa completă sub influența UV în timpul printării 3D.

#### **Obținerea controlată a nanoparticulelor de dioxid de titan prin sinteză hidrotermală moderată de dimedonă**

Posibilitatea sintezei în formă nanometrică a substanțelor a condus la re-evaluarea performanțelor lor, dar mai ales a materialelor obținute pe baza acestora (Iravani et al., 2014; Nechifor et al., 2009; Tawkaew et al., 2008; Willard et al., 2004), dintre acestea, dioxidul de titan având o aplicabilitate impresionantă (Díez-Pascual and Díez-Vicente, 2015; Rehman et al., 2015; Reyes-Coronado et al., 2008), inclusiv în biomedicină (Su et al., 2010; Tsuji et al., 2015). Aceste nanoparticule pot fi sintetizate prin diferite metode și tehnici experimentale precum: depunere în vid (Ding et al., 2001), sinteza chimică sol-gel (MacWan et al., 2011), sinteza solvotermală (Yang et al., 2013), sinteza în fază solidă (Choi et al., 2006).

În realizarea experimentală se abordează sinteza controlată solvo-hidro-termală moderată de dimedonă a dioxidului de titan din precursori organometalici. Prin utilizarea unei cantități mici de dimedonă (5,5-dimetil-1,3-ciclohexandionă), un agent de chelare, s-a urmărit stabilizarea alcoxizilor rezultați din reacție ca urmare a posibilității de control asupra reacțiilor sol-gel implicate.

### ***Parte experimentală***

#### ***Materiale***

Tetrabutilortotitanat și 5,5-dimetil-1,3-ciclohexandionă (Dimedonă) au fost procurate de la Fluka (Aldrich), în timp ce alcoolul metilic, alcoolul etilic și alcoolul izo-propilic au fost achiziționate de la Merck. Apa pură folosită în experimente este obținută într-o instalație de osmoză inversă Milipore.

#### ***Procedură***

##### ***Sinteza solvo-hidro-termală a dioxidului de titan***

Într-un balon de 500 mL al unei instalații tip Soxhlet se introduc 300 mL din alcoolul saturat inferior ales (metilic, etilic sau izopropilic) și 25 mL tetrabutilortotitanat. În general, datorită reactivității crescute a alcoxidului de titan acesta se diluează în raport de cel puțin 1:4 în alcoolul folosit.

Reactivitatea crescută a alcoxizilor în prezență apei sau a soluțiilor conținând isopropanol duce la formarea unei rețele tridimensionale de oxizi, rezultând și hidroxizi metalici respectiv oxizi hidratați, în conformitate cu reacțiile chimice.

În cartușul de celuloză regenerată al extractorului de 100 mL al instalației se introduce 1 g dimedonă dizolvată în 10 mL de apă pură. Pentru desfășurarea sintezei balonul instalației se așază pe o plită electrică prevăzută la bază cu mecanism de agitare magnetică, iar la partea superioară a extractorului este plasat un condensator de mare eficacitate.

Prin încălzirea (sub agitare magnetică la 250 rpm) balonului conținând tetrabutirat de titan în alcool saturat inferior, alcoolul se evaporă, urcă în tubul lateral a extractorului Soxhlet și ajunge în condensatorul de la partea superioară. Prin condensare, alcoolul ajunge în corpul extractorului intrând în contact cu conținutul cartușului celulozic (dimedonă în apă). La umplerea extractorului soluția alcoolic-apoasă conținând dimedonă la limita de solubilitate sifonează în balonul conținând tetrabutirat de titan. Sub agitare energetică (atât magnetică, cât și termică) are loc reacția de solvoliză hidrotermală a tetrabutiratului mediată de dimedonă producându-se instantaneu o opalescență semnificativă. Sinteza continuă prin evaporarea unei noi părți de alcool, ceea ce asigură un regim termic cvasiconstant, iar întoarcerea condensului în balonul blaz se va face cu un conținut cvasiconstant de dimedonă și apă. După douăzeci de cicluri de extracție se oprește încălzirea și se continuă agitare dispersiei obținute încă o oră. Dispersia se filtrază la vid și se spală de zece ori cu acetonă și eter etilic 1:1, obținându-se dioxid de titan în formă de pulbere nanometrică albă. Sinteza se realizează separat utilizând metanolul, etanolul sau izopropanolul ca solvent de extracție și dispersare, obținându-se trei tipuri de dioxid de titan notate cu TiO<sub>2</sub>-M, TiO<sub>2</sub>-E și TiO<sub>2</sub>-P. Materialele obținute s-au caracterizat cu ajutorul analizelor de microscopie electronică de baleaj (SEM) și EDAX efectuate pe un instrument FEI Inspect F.

#### ***Rezultate și discuții***

Caracterizarea diferitelor tipuri de nanoparticule de TiO<sub>2</sub> obținute cu ajutorul microscopiei electronice cu baleaj au pus în evidență prezența nanoparticulelor, confirmând rezultatul pozitiv al determinărilor experimentale.

Analiza elementală a pus în evidență prezența Ti, manifestată prin picul cu cea mai mare intensitate, după cum se poate vedea în Fig. 1, confirmând astfel prezența nanoparticulelor de  $\text{TiO}_2$  formate în sistem.

Analiza structurală și morfologică au pus în evidență prezența nanoparticulelor de dioxid de titan. În imaginile prezentate în Fig. 2 pot fi vizualizate structurile obținute pentru  $\text{TiO}_2$ -M. Dimensiunea particulelor pentru titania sintetizată în metanol variază între 1.66  $\mu\text{m}$  până la 2.97  $\mu\text{m}$ . Se remarcă faptul că, particulele sintetizate formează conglomerate de diverse forme.

Analiza morfologică pentru nanoparticulele de  $\text{TiO}_2$ -E evidențiază o uniformitate a formei nanoparticulelor obținute. Caracterizarea structurală pentru  $\text{TiO}_2$ -P cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj a permis determinarea dimensiunii nanoparticulelor între 30.0 – 61.9 nm.

Studiul SEM evidențiază o aglomerare a nanoparticulelor, precum și prezența unor forme neregulate a structurii nanoparticulelor.

Pentru obținerea materialelor nanocompozite  $\text{TiO}_2$  – PMMA s-a decis folosirea nanoparticulelor de  $\text{TiO}_2$  obținute în metanol datorită unei structuri mai regulate, având particule cu dimensiuni ce pot fi mai bine definite și mai ușor determinate.

***Obținerea materialului compozit polimer-nanoparticule de oxid de titan destinat utilizării în tehnica stereolitografică cu aplicație în domeniul stomatologic.***

***Parte experimentală***

***Materiale și procedură***

În vederea realizării materialului nanocompozit s-au utilizat nanoparticule de titan sintetizate anterior și polimerul biocompatibil polimetil metacrilat la care au fost adăugați aditivi care să permită ulterior reticularea sa completă sub influența UV în timpul procesului de prototipare rapidă.

Nanoparticulele de  $\text{TiO}_2$  obținute au fost uscate lent în etuvă la 60°C pentru 72 de ore, iar ulterior au fost mojarate.

Materialul de bază folosit, matricea polimerică, a fost soluția de polimetil metacrilat (PMMA) în care s-a adăugat polietil metacrilat (PEMA), monomer metil metacrilat (MMA) precum și un promotor pentru reacția de polimerizare prin mecanism radicalic – peroxidul dibenzol (BPO). Chimicalele necesare au fost procurate de la Envisiontec (GmbH, Gladbeck, Germania). Acest amestec al matricei polimerice de bază, o vom numi în continuare, simplu, PMMA.

Compozițiile obținute au fost realizate prin adaosuri diferite de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  considerând procentele masice, după cum urmează: 0.2%, 0.4%, 0.6%, 1.0% , 2.5% și 5.0%.

Amestecul nanocompozit a fost obținut sub agitare magnetică continuă la temperatura ambientală.

***Rezultate și discuții***

Întrucât materialele nanocompozite obținute trebuie folosite pentru printarea 3D, acestea trebuie să prezinte un anumit grad de fluiditate. Prin urmare, se poate face o selecție preliminară, în funcție de capacitatea nanocompozitelor de a „curge”.

Astfel, s-a constatat că adaosul de 5.0% nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  conduce la formarea unui nanocompozit cu o consistență aproape solidă, ceea ce nu permite utilizarea sa pentru printarea 3D, întrucât se riscă blocarea capului de printare al echipamentului.

Cum era de așteptat, prin adaos de 0.2%, respectiv 0.4% nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  nu se modifică semnificativ consistența matricei de bază. Începând de la un conținut de 0.6% în nanoparticule

TiO<sub>2</sub> se manifestă o schimbare progresivă a aspectului PMMA către compoziții cu fluiditate mai redusă.

De asemenea, dacă matricea polimerică inițială prezintă o culoare și o consistență similare cu cea de miere polifloră (chihlimbar închis), pe măsură ce fluiditatea scade se remarcă albirea semnificativă a compozitului.

Pentru efectuarea caracterizării materialului nanocompozit s-au ales compozițiile cu un conținut în nanoparticule de TiO<sub>2</sub> de: 0.2%, 0.4%, 0.6%, 1.0% și 2.5%.

### ***Caracterizarea complexă a compozitului PMMA-nanoparticule TiO<sub>2</sub> destinat printării 3D a protezelor dentare***

#### ***Caracterizarea morfologică și structurală a materialului nanocompozit***

Nanocompozitele obținute au fost studiate din punct de vedere structural și morfologic cu ajutorul microscopiei electronice cu baleiaj (SEM), iar analiza elementală a fost realizată cu ajutorul spectroscopiei cu energie dispersivă de raze X (EDX). În acest scop s-a utilizat un echipament FEI Inspect F (30 keV) folosind probe acoperite cu aur pentru asigurarea conductivității lor. Un echipament Bruker Tensor 27 cu sferă integratoare (ATR diamant) s-a folosit pentru realizarea analizelor de spectroscopie FT-IR.

#### ***Caracterizarea rezistenței mecanice și a comportamentului termic neizoterm pentru materialul compozit polimer- nanoparticule de oxid de titan***

Comportamentul din punct de vedere mecanic a fost urmărit prin înregistrarea evoluției compozitelor la stres mecanic, comparându-le cu răspunsul în aceleași condiții pentru matricea polimerică nemodificată. Asupra nanocompozitelor au fost efectuate și analize termice în regim de încălzire neizoterm urmărindu-se comportamentul acestora și stabilirea intervalelor de stabilitate termică precum și a modificărilor de fază ce apar. Analizele termice au fost efectuate pentru o viteză de încălzire de 10<sup>0</sup>C/min pentru un interval de temperaturi de la 25<sup>0</sup>C la 1,000<sup>0</sup>C ceea ce a permis și evidențierea formării fazei stabile a oxidului de titan.

#### ***Caracterizarea biochimică a materialului compozit polimer-nanoparticule de TiO<sub>2</sub>***

Evaluarea acțiunii antimicrobiene a nanocompozitelor obținute a fost efectuată față de *Candida scotti* folosind metoda diluțiilor seriale (Zgoda and Porter, 2001). S-au utilizat suspensii de microorganisme 0.5 McFarland și agar dextroză Sabouraud (2%). Inoculumul de fungi s-a preparat din culturi de bulion lichid după 24h. După incubarea la 37<sup>0</sup>C pentru 48-72 h pentru *Candida scotti* s-a determinat concentrația minimă inhibitorie (MIC) pentru fiecare material testat prin observarea macroscopică. Astfel, probele testate au fost numerotate de la 1 la 5 după cum este prezentat în Tabelul 1.

Tabel 1 Probe analizate pentru acțiunea antimicrobiană

<b><i>Nr. Probă</i></b>	<b><i>Compoziție probă</i></b>
1	PPMA
2	PMMA – 0.2% nanoparticule TiO <sub>2</sub>
3	PMMA – 0.4% nanoparticule TiO <sub>2</sub>
4	PMMA – 1.0% nanoparticule TiO <sub>2</sub>
5	PMMA – 2.5% nanoparticule TiO <sub>2</sub>

Pentru fiecare dintre probe analizate s-a aplicat metoda contactului acestora cu microorganismele în mediu apos. Fiecare flacon steril a conțuit 20 μL de mediu de analiză (agar dextroză Sabouraud) și proba de analizat. De asemenea, s-au folosit două probe suplimentare, și anume: proba pentru control pozitiv – M (creștere microbiană), și proba pentru control negativ (cu mediu steril – blank). În toate probele de analizat, mai puțin în flaconul cu blank s-a adăugat

50  $\mu\text{L}$  de inoculum standardizat. Acesta a fost cultură microbială (*Candida scotti*) în apă sterilă peptonată a unui mediu proaspăt de 24 ore, neselectiv realizat din triptonă, sare și agar având densitățile corespunzătoare pentru o densitate standard de 0.5 McFarland. Toate cele 7 tuburi de testat au fost incubate la temperatură de  $37^{\circ}\text{C}$  pentru 48-72 ore. Testarea vizuală a fost confirmată prin metoda TTC (clorură 2,3,5 trifeniltetrazolium) punând în evidență creșterea/inhibarea microorganismelor de către nanocompozitele obținute prin măsurarea activității dehidrogenazei (DHA) exprimată ca și densitate optică măsurată la o lungime de undă de 485 nm. Această metodă se bazează de fapt pe reducerea clorurii albe de 2, 3, 5 trifeniltetrazolium (TTC) la 1,3,5-triphenyltetrazolium formazan (TPF) de culoare roșie, reacție foarte sensibilă la prezența fungilor (Moussa et al., 2013).

#### **Caracterizarea citotoxicității materialului compozit polimer-nanoparticule de $\text{TiO}_2$**

Testul de micronucleație *in vitro* MNvit a fost realizat conform recomandarilor OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) 487 (Organization For Economic Cooperation And Development, 2010). S-au realizat culturi de limfocite umane. Sangele periferic a fost recoltat de la un individ de sex feminin de vârsta medie, sanatos care nu a fost expus recent la agenți genotoxici (substanțe chimice, radiații ionizante, infecții bacteriene/virale). Sangele periferic a fost recoltat pe anticoagulant (heparina). Aproximativ 0,5 mL sange heparinizat a fost transferat într-un tub ce conține 10 mL mediu PB-MAX (GIBCO) suplimentat cu fitohemaglutinină (agent mitogen), BSA, aminoacizi și antibiotic. Cultura a fost incubată la  $37^{\circ}\text{C}$ , 5% $\text{CO}_2$  pentru 24h. Probele au fost introduse în cultura de limfocite umane după 24 h de la inițiere, după ce, în prealabil, au fost sterilizate prin expunere la UV timp de 15 min. Concentrațiile testate a fost de 1.5 mg/m, 2.5 mg/m și 5.0 mg/mL. O probă a fost utilizată ca și control negativ - martor (fără nanocompozit). Fiecare probă a fost realizată în duplicat. Culturile au fost sacrificate după 72h de la adăugarea probelor, timp suficient pentru ca celulele să treacă prin mai multe runde de diviziune celulară astfel încât, să se poată identifica potențialele leziuni ADN sub formă de micronuclei în celulele interfazice. Cultura s-a realizat fără adăugarea de cytochalasin B (cytoB - inhibitor al polimerizării actinei). În etapele următoare s-a realizat sacrificarea culturilor prin hipotonizare în soluție de citrat de K și fixarea celulelor în soluție de metanol/acid acetic 3:1. Realizarea preparatelor microscopice pe lame de microscop și colorarea acestora în soluție Giemsa. Lamele au fost tratate în prealabil cu Tripsina-EDTA 10X. Analiza preparatelor microscopice s-a realizat la microscopul Olympus BX40.

#### **Rezultate finale și discuții**

##### **Caracterizarea morfologică a nanocompozitelor obținute**

Analiza morfologică efectuată cu ajutorul SEM asupra nanocompozitelor obținute au evidențiat dispersia aditivului  $\text{TiO}_2$  în matricea polimerică – Fig. 3. Din studiul imaginilor SEM s-a putut constata faptul că adaosul unor cantități mărite de nanoparticule în matricea polimerică inițială conduce la aglomerarea acestora. Astfel, în locul unor dispersii uniforme a nanoparticulelor se înregistrează diverse conglomerate. Un material prezentând o astfel de morfologie este de așteptat să prezinte o rezistență mecanică redusă și caracteristici modificate ale vâscozității. Analiza EDX prezentată în Fig.4 arată prezența Ti în compoziția materialului obținut. Se evidențiază de asemenea prezența unor aditivi anorganici care au rol de a crește rezistența mecanică a polimerului luat în studiu.



### **Caracterizarea structurală a nanocompozitelor obținute**

Analiza structurală a materialului nanocompozit obținut efectuată cu ajutorul spectroscopiei FT-IR a pus în evidență similarități care au permis identificarea matricei polimerice de bază, și anume PMMA (Riaz et al., 2016). Astfel, benzile de absorbție de la 3,000 și 2,900  $\text{cm}^{-1}$  corespund întinderii legăturii C-H a grupării metil ( $-\text{CH}_3$ ), în timp ce benzile de vibrație caracteristice pentru PMMA apar la 1,722  $\text{cm}^{-1}$  (C=O) și 1,426  $\text{cm}^{-1}$  (C-O). Pentru 1,450  $\text{cm}^{-1}$  se indentifică benzile specifice pentru întinderea asimetrică a legăturii C-H. Benzile de vibrație pentru gruparea C-O de la 1,150  $\text{cm}^{-1}$  și întinderea legăturilor pentru C-C de la 1,000 și 800  $\text{cm}^{-1}$  completează amprenta specifică spectrului PMMA.

Pentru 1,450  $\text{cm}^{-1}$  se indentifică benzile specifice pentru întinderea asimetrică a legăturii C-H. Benzile de vibrație pentru gruparea C-O de la 1.150  $\text{cm}^{-1}$  și întinderea legăturilor pentru C-C de la 1,000 și 800  $\text{cm}^{-1}$  completează amprenta specifică spectrului PMMA. Grupul  $\alpha$ - metil înregistrează o bandă la 1,388  $\text{cm}^{-1}$ . Benzile de absorbție caracteristice pentru PMMA (Riaz et al., 2016) sunt deplasate către 1,060  $\text{cm}^{-1}$ , 940  $\text{cm}^{-1}$ , respectiv 829  $\text{cm}^{-1}$ . Banda de absorbție de la 1,716  $\text{cm}^{-1}$  indică prezența grupului carboxilic din acrilat. Benzile prezente la 698  $\text{cm}^{-1}$  și 653  $\text{cm}^{-1}$  indică manifestări ale legăturilor specific pentru O=C=O și C-O-C. Pe baza observațiilor experimentale se poate concluziona că, soluția polimerică folosită pentru obținerea nanocompozitului este un amestec molecular de PMMA, PEMA și BPO.

Spectrele FT-IR prezentate în Fig. 5 scot în evidență atât deplasarea benzilor de absorbție cât și modificarea aspectului acestora ca urmare a adaosului unor cantități variabile de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$ . Aceste modificări permit corelarea cu evoluția altor proprietăți precum structura morfologică, comportamentul termic și rezistența mecanică a nanocompozitului. Interacția dintre matricea polimerică și aditivul nano  $\text{TiO}_2$  poate fi studiată urmărind deplasarea benzilor de absorbție, apariția unor noi picuri sau modificarea în formă și intensitate a unor benzi existente în spectrul FT-IR. În acest sens, banda de vibrație pentru Ti-O-C apare la 810  $\text{cm}^{-1}$  în cazul compozitelor. Această bandă de vibrație este foarte apropiată de banda de întindere a legăturii C-C din PPMA ce apare la 827  $\text{cm}^{-1}$ . Banda intensă de absorbție de la 1,722  $\text{cm}^{-1}$  ce este caracteristică pentru carbonilul grupării esterice manifestă o modificare în intensitate pentru nanocompozite. Banda de absorbție caracteristică pentru  $-\text{CH}_2$  ce apare la 2,962  $\text{cm}^{-1}$  prezintă o modificare a intensității comparativ cu spectrul PMMA. Pentru această bandă, intensitatea maximă de absorbție s-a înregistrat pentru 0.4% adaos de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$ , după cum se poate urmări în Fig. 5.

De remarcat că, odată cu creșterea conținutului în nanoparticule a compozitului polimeric are loc scăderea în intensitate a acestei benzi de absorbție. Prin urmare, astfel de modificări pot fi considerate ca un rezultat al interacției dintre matricea PMMA și nanoparticulele de  $\text{TiO}_2$ . Luând în considerare interacția filerului metalic cu matricea polimerică este de așteptat o îmbunătățire a proprietăților mecanice și termice pentru 0.4% nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  adăugate. În acest context, au fost studiate și modificările structurale suferite în urma expunerii la radiație UV pentru compozitul cu 0.4%  $\text{TiO}_2$ . Per ansamblu, intensitățile spectrului FT-IR înregistrat sunt mult mai scăzute. Vibrația caracteristică pentru întinderea legăturii C-O-C este deplasată la 1,241  $\text{cm}^{-1}$ , în timp ce vibrația caracteristică pentru PMMA este deplasată la 1,007  $\text{cm}^{-1}$ . Banda de vibrație pentru Ti-O este deplasată la 796  $\text{cm}^{-1}$ , în timp ce banda evidențiată la 3,362  $\text{cm}^{-1}$  se poate datora unei suprapunerii a legăturilor de hidrogen din grupările hidroxil și vibrațiile simetrice și asimetrice ale grupării hidroxil din apa coordnată de către cationii  $\text{Ti}^{4+}$ . Banda de absorbție de la 1,634  $\text{cm}^{-1}$  se poate atribui vibrațiilor de întindere și îndoire în plan pentru -OH.

### ***Caracterizarea rezistenței mecanice a nanocompozitelor obținute***

Este cunoscut faptul că orice material folosit pentru dispozitive stomatologice este supus unor forțe foarte importante, precum sunt forțele masticatorii. Astfel, materialele nanocompozite obținute au fost studiate din punct de vedere al rezistenței la compresie mecanică. De remarcat însă, că sunt unele dificultăți în determinarea cu precizie a mărimilor specifice, întrucât trebuie să se asigure o încărcare uniaxială sau biaxială pe material.

Datele experimentale obținute la compresiune aplicată pe probele de PMMA și material compozit pun în evidență un comportament deosebit. Astfel, se observă o creștere a rezistenței la o compresiune mai ridicată în cazul nanocompozitelor cu un conținut de 0.2% și 0.6%  $\text{TiO}_2$  dar pentru un timp ușor mai redus comparativ cu PMMA, în timp ce pentru compozitul având 0.4% nanoparticule de titania forțele de compresie la care rezistă sunt foarte ușor reduse față de PMMA până la atingerea punctului de rupere, după care comportamentul nanocompozitului este îmbunătățit, în sensul că rezistă la o forță de compresie mai ridicată în continuare pentru mai mult timp decât PMMA (Fig. 6 a). O creștere în conținutul de nanoparticule, nu aduce o modificare pozitivă în comportamentul materialului astfel că, acestea rezistă un timp mai scurt și la valori mai scăzute a puterii de compresie comparativ cu PMMA. A fost efectuat și studiul asupra rezistenței la forțele de forfecare, întrucât forțele masticatorii sunt foarte puternice și complexe, având pe lângă componenta de compresie și o forță componentă de forfecare. Din studiul experimental efectuat se remarcă comportamentul îmbunătățit al nanocompozitelor comparativ cu PMMA. Și de această dată se observă o evoluție semnificativ diferită a nanocompozitului având 0.4%  $\text{TiO}_2$  în raport masic față de matricea polimerică (Fig. 6 b). Coroborând rezultatele experimentale ale comportamentului de rezistență mecanică, putem concluziona că **nanocompozitul având un conținut de 0.4%  $\text{TiO}_2$  reprezintă o soluție optimă pentru a fi folosit în printarea 3D a protezelor dentare.**

### ***Caracterizarea termică neizotermă a nanocompozitelor obținute***

Studiile de analiză termică neizotermă au arătat că procentul de mixare a nanoparticulelor de titania cu PMMA conduc la modificări ale comportamentului termic, similar cu schimbarea morfologiei nanocompozitelor. Analizele termice prezentate în Fig.7 pun în evidență patru etape distincte de descompunere termică, având ca puncte de maxim al procesului termic: 44.92 °C, 271.86°C, 325.00°C și 393.00°C pentru matricea de PMMA. Curbe similare de piroliză se înregistrează pentru toate nanocompozitele obținute. Se remarcă o deplasare a picurilor termice spre valori mai crescute ale temperaturii comparativ cu PMMA. Acest aspect se poate datora unei stabilități termice superioare ca urmare a aditivilor de tip  $\text{TiO}_2$ . De asemenea, comportamentul termic general indică o dispersie relative uniform a nanoparticulelor de dioxid de titan în matricea de PMMA, ceea ce nu permite o mișcare liberă a scheletului polimeric. După cum se poate vedea cu ușurință au loc modificări ale picurilor endotermice. Valorile celui de-al doilea și celui de al treilea pic endotermic se deplasează către temperaturi mai ridicate cu adaosul de  $\text{TiO}_2$  în matricea polimerică. Mai mult, adâncimea “umărului” se modifică odată varierea conținutului în  $\text{TiO}_2$ , ca urmare a schimbărilor în dimensiunea medie a cristalitelor. Analiza termică, ca și tehnică de lucru foarte valoroasă pentru caracterizarea materialelor polimerice și a compozitelor acestora, permite determinarea atât a temperaturii de tranziție vitrosă, a purității, punctului de topire, cât și identificarea reacțiilor de reticulare. Deplasarea temperaturilor la care se înregistrează diferitele etape de descompunere termică în cazul nanocompozitelor pe bază de PMMA se poate datora unei bune miscibilități între matricea polimerică și nanofilerul  $\text{TiO}_2$ , precum și o bună dispersabilitate în faza amorfă a rețelei polimerice. Modificările în formă și arie a descompunerilor termice, endotermice în mod deosebit, se pot datora unei schimbări a gradului

de cristalinitate și a aranjamentului ordonat molecular. Analizele termice efectuate au indicat faptul că adăugarea de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  în matricea polimerică de PMMA au condus la îmbunătățirea performanțelor, respectiv a stabilității termice (Cristache and Totu, 2016).

### **Caracterizarea efectului antibacterian al nanocompozitelor obținute**

După cum s-a menționat în secțiunea „**Caracterizarea biochimică a materialului compozit polimer-nanoparticule de  $\text{TiO}_2$** ”, testul TTC a fost aplicat pentru a se confirma sau infirma activitatea inhibitorie a nanocompozitelor sintetizate asupra *Candida scotti*. Din rezultatele calitative experimentale obținute, probele conținând 0.4%, 1.0% și 2.5% nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  au inhibat creșterea *Candida scotti* în condiții standard conform metodei de control a toxicității DHA (Totu et al., 2017). Confirmarea biochimică a activității dehidrogenazei, DHA, a pus în evidență faptul că nanocompozitele obținute prezintă o activitate antimicrobiană foarte bună față de *Candida scotti*. Prin urmare, este de așteptat ca astfel de nanocompozite să prevină atașarea, înmulțirea, colonizarea microorganismelor și formarea biofilmelor pe protezele dentare.

### **Caracterizarea citotoxicității materialului compozit polimer-nanoparticule de $\text{TiO}_2$ utilizat pentru confecționarea protezelor dentare**

#### **Analiza proliferării celulare**

Culturile (descrise în secțiunea „**Caracterizarea citotoxicității materialului compozit polimer-nanoparticule de  $\text{TiO}_2$** ”) s-au realizat fără cytoB și în acest caz a fost necesară măsurarea indicelui RICC (Relative Increase in Cell Count) astfel încât, să se demonstreze faptul că celulele din cultură au parcurs diviziunea celulară. În caz contrar, pot fi înregistrate răspunsuri fals negative.

Tabel 2. Citotoxicitatea nanocompozitului PMMA – 0.4%  $\text{TiO}_2$  în funcție de concentrație (**Citotoxicitatea = 100 – RICC**)

Tipul NP	Concentrația probei în mediu de cultură		
	1.5 mg/mL	2.5 mg/mL	5.0 mg/mL
P	42.4%	59.9%	72.3%
Ti-	49.0%	62.2%	74.9%
Ti+	50.1%	61.4%	68.1%

Imaginile de microscopie sunt prezentate în Fig. 8.

Conform indicelui RICC a fost calculată citotoxicitatea pentru fiecare concentrație și după cum se constată în tabelul nr.2, la concentrațiile de 2.5mg/mL și 5 mg/mL depășesc concentrațiile maxime admise pentru o evaluare corectă fără rezultate fals pozitive. Dacă citotoxicitatea depășește 60% determină apariția micronucleilor ca un efect secundar al citotoxicității, astfel încât nu poate fi evaluată incidența MN ca urmare a capacității genotoxice a substanței.

#### **Analiza incidenței micronucleilor**

Tabel 3. Analiza frecvenței micronucleilor în funcție de probă la concentrația de 1,5 mg/mL (evaluarea s-a realizat prin medierea frecvenței MN la 1000 nuclei pentru cele două replici)

Tipul NP	Concentrația NP în mediu de cultură
	1,5 mg/mL
P	5,0‰

Ti-	6,8‰
Ti+	5,8‰
Control negativ	5,2‰

Concentrația de 1.5 mg/mL a probei în mediu de cultură a determinat o incidență relativ scăzută a micronucleilor comparativ cu controlul negativ, reprezentând și o concentrație favorabilă realizării evaluării capacității genotoxice.

### ***Realizarea protezelor dentare printate 3D folosind noul nanocompozit obținut***

Prototipul protezei totale inițiale a fost confecționată cu nanocompozitului PMMA – 0.4% nanoparticule de TiO<sub>2</sub> produs și complet caracterizat. Pentru un caz clinic real, modelele funcționale cât și relația centrică (RC) și dimensiunea verticală de ocluzie (DVO) au fost digitalizate, iar macheta protezei s-a realizat virtual (CAD) cu ajutorul software-ului dedicat 3Shape (Copenhaga, Danemarca) pentru design-ul protezelor totale și a fost exportată ca fișier format .dcm către o imprimanta 3D Envisiontec (GmbH, Gladbeck, Germania).

Proteza dentară a fost creată strat cu strat prin fotopolimerizarea cu ajutorul unei raze laser de o anumită frecvență și intensitate, asistată de computer (CAD), laser ce declanșează reacția în materialul nanocompozit cu 0.4% nanoparticule de TiO<sub>2</sub>, Fig. 9.

Înainte de trimiterea comenzii către imprimantă, la nivelul suprafeței externe a protezei, se editează automat structurile de sprijin, necesare pentru a preveni deformarea în timpul procesului de prototipare rapidă. Prin această opțiune se asigură integritatea lucrării și totodată ușurința îndepărtării acestora. Modelul 3D dorit este feliat inițial în secțiuni transversale pe care fasciculul laser le trasează pe suprafața rășinei lichide. Expunerea la lumina laser ultravioletă solidifică modelul trasat pe rășina lichidă PMMA cu nano-TiO<sub>2</sub>, rezultând un strat solid construit (printat 3D) care se adaugă la stratul precedent construit.

După finalizarea construcției, modelul 3D obținut trece printr-o fază de postprocesare: este imersat într-o baie chimică separată (alcool izopropilic), pentru îndepărtarea excesului de rășină, este sblat, se îndepărtează suporții de sprijin, se finisează după care este tratat într-un cuptor cu radiații ultraviolete pentru polimerizarea finală.

Pentru obținerea unei culori cât mai apropiate de cea a țesutului mucozal s-a folosit un acrilat multifuncțional autoplimerizabil, cu o stabilitate coloristică în timp foarte bună, disponibil în trei nuanțe (Vertex Acrylic stain, Vertex Dental®, Olanda), cu care s-a cosmetizat porțiunea gingivală a protezei (Fig. 9).

Avantaje de necontestat ale tehnologiei de printare 3D utilizată în confecționarea protezelor totale:

- Ușurința refacerii protezei, pe baza design-ului stocat pe termen nelimitat, sub forma unui fișier .stl sau .dcm. În cazul în care proteza este distrusă accidental, timpul necesar refacerii, fără prelucrări ulterioare și machiaj, este de cca 60 minute (în funcție de complexitatea construcției și de caracteristicile imprimantei).
- Design-ul și capacitatea de manufacturare, unor forme dentare personalizate nerestricționată de axul de frezaj sau limitele mașinii cum se întâmplă în situația tehnicii substructive. Imprimanta poate printa 3D toate detaliile anatomo-morfologice interioare-exteroare cu o rezoluție foarte fină, aceasta reprezentând înălțimea stratului depus.
- Consum redus de material: spre deosebire de tehnica substractivă în care se pierde întreg blank-ul. În tehnica aditivă se consumă strict cantitatea de material necesară printării

obiectului. Rășina rămasă în cuva de construcție poate fi reutilizată la printările ulterioare.

- Protocol de producție descris este accesibil oricărui laborator de tehnică dentară ce deține un echipament adecvat respectiv imprimantă 3D și software CAD-CAM compatibil. Se evită astfel costurile suplimentare și consumul de timp aferente tehnicilor centralizate.

### Bibliografie

- Akin, H., Tugut, F., Polat, Z.A., 2015. In Vitro Comparison of the Cytotoxicity and Water Sorption of Two Different Denture Base Systems. *J. Prosthodont.* 24, 152–155. doi:10.1111/jopr.12162
- Anitha, R., Arunachalam, S., Radhakrishnan, P., 2001. Critical parameters influencing the quality of prototypes in fused deposition modelling, in: *Journal of Materials Processing Technology.* pp. 385–388. doi:10.1016/S0924-0136(01)00980-3
- Baba, N.Z., Goodacre, C.J., Kattadiyil, M.T., 2015. CAD/CAM removable prosthodontics, in: *Clinical Applications of Digital Dental Technology.* John Wiley & Sons, Inc, pp. 107–138.
- Choi, S.Y., Lee, B., Carew, D.B., Mamak, M., Peiris, F.C., Speakman, S., Chopra, N., Ozin, G.A., 2006. 3D hexagonal (R-3m) mesostructured nanocrystalline titania thin films: Synthesis and characterization. *Adv. Funct. Mater.* 16, 1731–1738. doi:10.1002/adfm.200500507
- Cristache, C.-M., Totu, E.E., 2016. CAD-CAM - A Third Millennium Technology in Dentistry / CAD-CAM - O tehnologie a mileniului trei în stomatologie (Ro). Editura Didactica și Pedagogica, Bucharest.
- Cristache, C.M., Totu, E.E., Butnărașu, C., 2016. Tehnica stereolitografică în confecționarea protezelor totale. *dentalTarget* 11.
- Díez-Pascual, A.M., Díez-Vicente, A.L., 2015. Nano-TiO<sub>2</sub> reinforced PEEK/PEI blends as biomaterials for load-bearing implant applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 5561–5573. doi:10.1021/acsami.5b00210
- Ding, Z., Hu, X., Yue, P.L., Lu, G.Q., Greenfield, P.F., 2001. Synthesis of anatase TiO<sub>2</sub> supported on porous solids by chemical vapor deposition. *Catal. Today* 68, 173–182. doi:10.1016/S0920-5861(01)00298-X
- El Bahra, S., Ludwig, K., Samran, A., Freitag-Wolf, S., Kern, M., 2013. Linear and volumetric dimensional changes of injection-molded PMMA denture base resins. *Dent Mater* 29, 1091–1097. doi:10.1016/j.dental.2013.07.020
- Ercan, B., Taylor, E., Alpaslan, E., Webster, T.J., 2011. Diameter of titanium nanotubes influences anti-bacterial efficacy. *Nanotechnology* 22, 295102. doi:10.1088/0957-4484/22/29/295102
- Gautam, R., Singh, R.D., Sharma, V.P., Siddhartha, R., Chand, P., Kumar, R., 2012. Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 100B, 1444–1450. doi:10.1002/jbm.b.32673
- Ippolito, R., Iuliano, L., Gatto, A., 1995. Benchmarking of rapid prototyping techniques in terms

- of dimensional accuracy and surface finish. *CIRP Ann. Technol.* 44, 157–160.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., Zolfaghari, B., 2014. Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, physical and biological methods. *Res. Pharm. Sci.*
- Jacob, R.F., 1998. The traditional therapeutic paradigm: Complete denture therapy. *J. Prosthet. Dent.* 79, 6–13. doi:10.1016/S0022-3913(98)70186-6
- Kattadiyil, M.T., Goodacre, C.J., Baba, N.Z., 2013. CAD/CAM complete dentures: a review of two commercial fabrication systems. *J Calif Dent Assoc* 41, 407–416.
- Kim, G.D., Oh, Y.T., 2008. A benchmark study on rapid prototyping processes and machines: quantitative comparisons of mechanical properties, accuracy, roughness, speed, and material cost. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part B J. Eng. Manuf.* 222, 201–215.
- Kubacka, A., Diez, M.S., Rojo, D., Bargiela, R., Ciordia, S., Zapico, I., Albar, J.P., Barbas, C., Martins dos Santos, V.A.P., Fernández-García, M., Ferrer, M., 2014. Understanding the antimicrobial mechanism of TiO<sub>2</sub>-based nanocomposite films in a pathogenic bacterium. *Sci. Rep.* 4, 4134. doi:10.1038/srep04134  
<http://www.nature.com/articles/srep04134#supplementary-information>
- Lennings, L., 2000. Selecting either layered manufacturing or CNC machining to build your prototype. *SME Tech. Pap. Rapid Prototyp. Assoc.* PE00-171 1–10.
- MacWan, D.P., Dave, P.N., Chaturvedi, S., 2011. A review on nano-TiO<sub>2</sub> sol-gel type syntheses and its applications. *J. Mater. Sci.* doi:10.1007/s10853-011-5378-y
- Moussa, S.H., Tayel, A.A., Al-Hassan, A.A., Farouk, A., 2013. Tetrazolium/Formazan Test as an Efficient Method to Determine Fungal Chitosan Antimicrobial Activity. *J. Mycol.* 2013, 7. doi:10.1155/2013/753692
- Nechifor, G., Voicu, S.I., Nechifor, A.C., Garea, S., 2009. Nanostructured hybrid membrane polysulfone-carbon nanotubes for hemodialysis. *Desalination* 241, 342–348. doi:10.1016/j.desal.2007.11.089
- Organization For Economic Cooperation And Development, 2010. Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. *Guidel. Test. Chem.* 23. doi:10.1787/9789264091016-en
- Pennington, R.C., Hoekstra, N.L., Newcomer, J.L., 2005. Significant factors in the dimensional accuracy of fused deposition modelling. *Proc. Inst. Mech. Eng. Part E J. Process Mech. Eng.* 219, 89–92. doi:10.1243/095440805x6964
- Rehman, F.U., Zhao, C., Jiang, H., Wang, X., 2015. Biomedical applications of nano-titania in theranostics and photodynamic therapy. *Biomater. Sci.* 4, 40–54. doi:10.1039/C5BM00332F
- Reyes-Coronado, D., Rodríguez-Gattorno, G., Espinosa-Pesqueira, M.E., Cab, C., de Coss, R., Oskam, G., 2008. Phase-pure TiO<sub>2</sub> nanoparticles: anatase, brookite and rutile. *Nanotechnology* 19, 145605. doi:10.1088/0957-4484/19/14/145605
- Riaz, M., Mehmood, R., Abbas, N., Abbasi, S.A., 2016. On Effective Dual Use of Auxiliary

- Information in Variability Control Charts. *Qual. Reliab. Eng. Int.* 32, 1417–1443. doi:10.1002/qre.1848
- Soygun, K., Bolayir, G., Boztug, A., 2013. Mechanical and thermal properties of polyamide versus reinforced PMMA denture base materials. *J Adv Prosthodont* 5, 153–160.
- Su, W., Wang, S., Wang, X., Fu, X., Weng, J., 2010. Plasma pre-treatment and TiO<sub>2</sub> coating of PMMA for the improvement of antibacterial properties. *Surf. Coatings Technol.* 205, 465–469. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.07.013
- Sun, J, Zhang, F., 2012. The Application of Rapid Prototyping in Prosthodontics. *J. Prosthodont.*
- Tawkaew, S., Chareonpanich, M., Supothina, S., 2008. Preparation and photocatalytic study of fibrous K<sub>0.3</sub>Ti<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.3(OH)1.7-anatase TiO<sub>2</sub> nanocomposite photocatalyst. *Mater. Chem. Phys.* 111, 232–237. doi:10.1016/j.matchemphys.2008.03.031
- Totu, E.E., Nechifor, A.C., Nechifor, G., Aboul-Enein, H.Y., Cristache, C.M., 2017. Poly(methyl methacrylate) with TiO<sub>2</sub> nanoparticles inclusion for stereolithographic complete denture manufacturing – the future in dental care for elderly edentulous patients? *J. Dent.* 59, 68–77. doi:10.1016/j.jdent.2017.02.012
- Tsuji, M., Ueda, T., Sawaki, K., Kawaguchi, M., Sakurai, K., 2015. Biocompatibility of a titanium dioxide-coating method for denture base acrylic resin. *Gerodontology.* doi:10.1111/ger.12204
- Van Noort, R., 2012. The future of dental devices is digital. *Dent. Mater.* 28, 3–12.
- Vojdani, M., Bagheri, R., Khaledi, A.A.R., 2015. Effects of aluminum oxide addition on the flexural strength, surface hardness, and roughness of heat-polymerized acrylic resin. *J. Dent. Sci.* 7, 238–244. doi:10.1016/j.jds.2012.05.008
- Wady, A.F., Machado, A.L., Zucolotto, V., Zamperini, C.A., Berni, E., Vergani, C.E., 2012. Evaluation of *Candida albicans* adhesion and biofilm formation on a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles. *J Appl Microbiol* 112, 1163–1172. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05293.x
- Wang, Y., Wen, C., Hodgson, P., Li, Y., 2014. Biocompatibility of TiO<sub>2</sub> nanotubes with different topographies. *J Biomed Mater Res A* 102, 743–751. doi:10.1002/jbm.a.34738
- Webb, P.A., 2000. A review of rapid prototyping (RP) techniques in the medical and biomedical sector. *J. Med. Eng. Technol.* 24, 149–153. doi:10.1080/03091900050163427
- Willard, M.A., Kurihara, L.K., Carpenter, E.E., Calvin, S., Harris, V.G., 2004. Chemically prepared magnetic nanoparticles. *Int. Mater. Rev.* 49, 125–170. doi:10.1179/095066004225021882
- Williams, D.W., Chamary, N., Lewis, M.A., Milward, P.J., McAndrew, R., 2011. Microbial contamination of removable prosthodontic appliances from laboratories and impact of clinical storage. *Br Dent J* 211, 163–166. doi:10.1038/sj.bdj.2011.675
- Wimmer, T., Gallus, K., Eichberger, M., Stawarczyk, B., 2016. Complete denture fabrication supported by CAD/CAM. *J. Prosthet. Dent.* 115, 541–546.

doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.prosdent.2015.10.016>

Yang, G., Yang, B., Xiao, T., Yan, Z., 2013. One-step solvothermal synthesis of hierarchically porous nanostructured CdS/TiO<sub>2</sub> heterojunction with higher visible light photocatalytic activity. *Appl. Surf. Sci.* 283, 402–410. doi:10.1016/j.apsusc.2013.06.122

Zgoda, J.R., Porter, J.R., 2001. A Convenient Microdilution Method for Screening Natural Products Against Bacteria and Fungi. *Pharm. Biol.* 39, 221–225. doi:10.1076/phbi.39.3.221.5934



## REVENDICĂRI

1. Material nanocompozit pe bază de poli(metilmacrilat) și 0.4 în procente masice de nanoparticule de dioxid de titan *caracterizat prin aceea că are structură morfologică uniformă, rezistență mecanică și termică superioară poli(metilmacrilatului), acțiune antibacteriană și este lipsit de efect citotoxic.*
2. Procedeu de obținere a unui material nanocompozit pe bază de poli(metilmacrilat) și 0.4 în procente masice de nanoparticule de dioxid de titan definit prin revendicarea 1, *caracterizat prin aceea că este realizat prin următoarele etape:*
  - Obținerea nanoparticulelor de dioxid de titan prin sinteză controlată solvo-hidro-termală moderată de dimedonă din precursori organometalici. Prin utilizarea unei cantități mici de dimedonă (5,5-dimetil-1,3-ciclohexandionă) ce este un agent de chelare, s-a urmărit stabilizarea alcoxizilor rezultați din reacție ca urmare a posibilității de control asupra reacțiilor sol-gel implicate.
  - Nanoparticulele de  $\text{TiO}_2$  obținute au fost uscate lent în etuvă la  $60^\circ\text{C}$  pentru 72 de ore, iar ulterior au fost mojarate.
  - Materialul de bază folosit, matricea polimerică, a fost soluția de polimetil metacrilat (PMMA) în care s-a adăugat polietil metacrilat (PEMA), monomer metil metacrilat (MMA) precum și un promotor pentru reacția de polimerizare prin mecanism radicalic – peroxidul dibenzol (BPO).
  - Compozițiile obținute au fost realizate prin adaosuri diferite de nanoparticule de  $\text{TiO}_2$  considerând procente masice corespunzătoare: 0.2%, 0.4%, 0.6%, 1.0% și 2.5% iar amestecul nanocompozit a fost obținut sub agitare magnetică continuă la temperatura ambientală.
  - Coroborând caracterizările complexe cu rezultatele experimentale ale comportamentului de rezistență mecanică și efectul antibacterian, nanocompozitul având un conținut de 0.4%  $\text{TiO}_2$  a fost considerat soluția optimă pentru a fi folosit în printarea 3D a protezelor dentare.
3. Obținerea de proteze dentare folosind material nanocompozit pe bază de poli(metilmacrilat) și 0.4 în procente masice de nanoparticule de dioxid de titan definit prin revendicarea 1, *caracterizată prin aceea că se realizează prin aplicare metodei de procesare rapidă (RP) - DLPM (Digital Light Projection Manufacturing = Fabricare prin proiecția digitală a luminii), o variantă tehnică a stereolitografiei.*



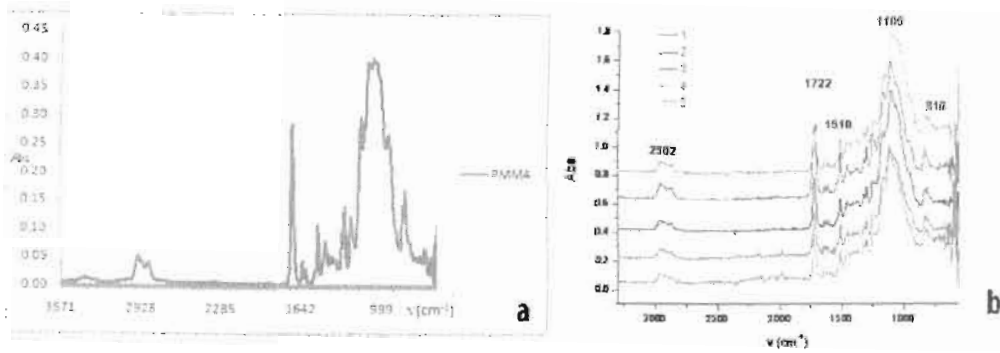


Figura 5. Spectrele FT-IR pentru: a. PMMA și b. material nanocompozit PMMA - diverse adaosuri de TiO<sub>2</sub>: 1) 1%; 2) 0.2%; 3) 0.4%; 4) 1%; 5) 2.5%.

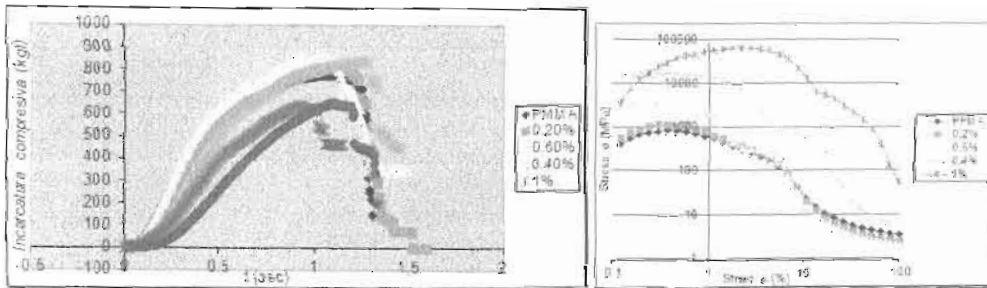


Figura 6 a Rezultatele analizelor de compresiune pentru PMMA simplu și nanocompozitul cu diverse adaosuri de TiO<sub>2</sub>.

Figura 6 b Studiul rezistenței la forfecare pentru PMMA simplu și materialul nanocompozit cu diverse adaosuri de TiO<sub>2</sub>.

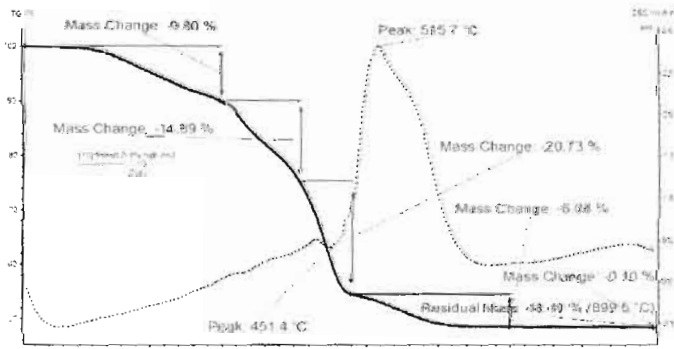


Figura 7. Analiza termică neizotermă pentru PMMA nanocompozit cu 0.4% TiO<sub>2</sub>.

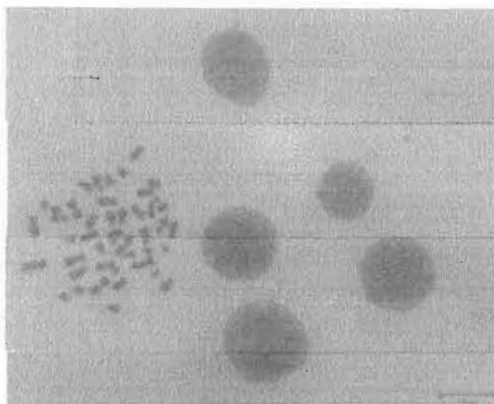


Figura 8. Imagine microscopic de fluorescență pentru analiza de citotoxicitate a PMMA nanocompozit cu 0.4%  $\text{TiO}_2$ .

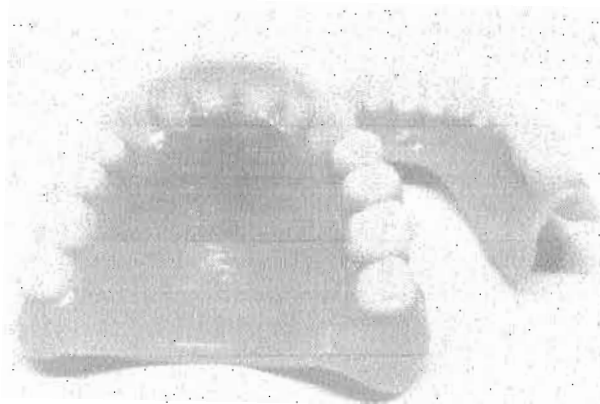


Figura 9 – Proteza dentară obținută prin prototipare rapidă, folosind PMMA nanocompozit cu 0.4%  $\text{TiO}_2$ .