

Universidade Estadual Paulista — UNESP "Julio de Mesquita Filho" Faculdade de Odontologia de Araraquara

Andréa Azevedo Lazarin

Efetividade de vernizes fotopolimerizáveis experimentais na redução da hidrofobicidade e adesão de *Candida albicans* em uma resina para base de prótese.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral – Área de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Doutor em Prótese.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lucia Machado Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

Araraquara - 2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Lazarin, Andréa Azevedo

Efetividade de vernizes fotopolimerizáveis experimentais na redução da hidrofobicidade e adesão de *Candida albicans* em uma resina para base de prótese / Andréa Azevedo Lazarin . — Araraquara: [s.n.], 2009.

192 f.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora : Profa. Dra. Ana Lucia Machado Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani

1. Candida albicans 2. Hidrofobicidade 3. Resinas acrílicas I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

Andréa Azevedo Lazarin

Efetividade de vernizes fotopolimerizáveis experimentais na redução da hidrofobicidade e adesão de *Candida albicans* em uma resina para base de prótese.

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador - Profa. Dra. Ana Lucia Machado

- 2º Examinador .Profa. Dra. Ana Claudia Pavarina
- 3º Examinador Prof. Dr. Marco Antonio Compagnoni
- 4º Examinador Profa. Dra. Dalva Cruz Laganá
- 5º Examinador Profa. Dra. Claudia Helena Lovato da Silva

Araraquara, 29 de julho de 2009.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

Dados Curriculares

Andréa Azevedo Lazarin

Nascimento

*11/12/1974 - Ribeirão Preto - SP

Filiação

- *Manoel Eudes de Azevedo
- *Vera Lúcia Puga de Azevedo

1996-1999

*Graduação pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

1996-1999

*Estágio de Iniciação Científica (bolsa PAE e FAPESP) na Disciplina de Prótese Parcial Removível – FOAr – UNESP

2002-2003

* *Aluna Especial* do Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2003-2005

*Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2005-2009

* Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral, nível de Doutorado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP Dedica esse estuda...

a DEUS e a Nossa Senhora Auxiliadora...

...Que tem me acompanhado e nunca abandonado nessa longa e particular caminhada... algumas vezes fáceis e outras difíceis, mas nunca sozinha! Obrigada por colocar em minha vida "pessoas" e "momentos" tão grandiosos, fazendo com que eu jamais perdesse a Fé e deixasse de acreditar em verdadeiros "milagres", acontecidos pela intervenção de Nossa Senhora **Auxiliadora**. Obrigada **SENHOR**, por dar-me a oportunidade de viver e receber

a sua bênção todos os dias! Obrigada **SENHOR**, por acreditar e me fazer amar a

todos! E agradecer...

"PAI NOSSO que estais no Céu, santificado seja o Vosso nome, venha a nós o Vosso reino, que seja feita a vossa vontade, assim na terra como no céu. O pão nosso de cada dia nos dai hoje; perdoai-nos as nossas ofensas, assim como nós perdoamos a quem nos tem ofendido e não nos deixeis cair em tentação,

mas livrai-nos do mal. Amém!"

Aos meus Pais Manoel e Vera,

Obrigada pelas Renúncias e pela Dedicação diária de Amor e Paciência... Hoje, como esposa e mãe, sei o que os pais fazem por um "filho"! A começar por compreender o Amor incondicional que "brota" do fundo dos nossos corações, e que serve de fonte de forças para enfrentarmos o que for necessário para vê-los

Felizes e Realizados.

Meu eterno OBRIGADA! Amo muito vocês!!!"

"O verdadeiro amor é aquele que permanece sempre, se a ele damos tudo ou se lhe recusamos tudo." (Johan Goethe)

As minhas Irmãs e cunhados...

Karina e Leandro (Ká e Lê), e Rochele e Guilherme (Gigia e Gui), OBRIGADA

pelo amor, paciência e incentivo nessa minha trajetória. Fico muito feliz em ver,

a cada dia, nossa FAMÍLIA crescer e a casa da Mami e do Papi encher!!! Que

sejamos cada vez mais unidos, em todos os momentos de nossas vidas!!! Amo

vocês!

"O espírito enriquece-se com o que recebe; o coração com o que dá."

(V. Hugo)

Ao Meu amado irmão Carlos Eduardo (in memorian),

Obrigada por estar mais do que nunca entre **Nós**. Saiba que jamais estará longe

do meu pensamento... Com o passar dos anos, sua presença, a cada dia, torna-se

mais **viva** e **constante**. Digo isso não só em meu nome, mas da nossa grande

FAMÍLIA!... E fica, então, o doce sentimento de **Saudade** e a enorme vontade de

te **Abraçar**, e dizer que te amarei eternamente... Que você esteja em paz!

"O tempo não pára! Só a saudade é que faz as coisas pararem no tempo."

(M. Quintana)

Aos meus avós, Domingos e Geny, e minha tia Arlete,

Pela atenção e preocupação que sempre prestaram a mim, pela torcida e

palavras de conforto. Vocês são pessoas muito importantes na minha vida. Meu

muito Obrigada!

"...E as pedras do meu caminho? Guardo todas um dia construirei

um castelo." (Fernando Pessoa)

Aos meus sogros Sr. Luis, D. Mercedes, e aos meus cunhados Silmara e Israel,

OBRIGADA por me receberem em sua casa, e em suas vidas de braços tão abertos! Obrigada pelo apoio e pelos cuidados em relação ao Gustavo, me deixando mais tranquila para finalizar meus estudos. Obrigada por me proporcionarem tanta hospitalidade com generosidade e paciência. Espero que possamos compartilhar muitos momentos felizes em Família! Meus sinceros agradecimentos.

"O segredo é não correr atrás das borboletas... É cuidar do jardim para que elas venham até você." (Mario Quintana)

Ao meu amado Esposo Ricardo ("Meu Amorzinho")...

Companheiro, Amigo, Conselheiro, meu Amor... Sempre te questiono: porque demorou tanto a aparecer e fazer parte da minha vida, e minha vida fazer parte da sua? E assim, hoje, sinto-me completa. Obrigada por tornar os meus dias mais "Alegres" e meus "problemas" mais leves. Desculpe, muitas vezes, pela minha ausência, falta de paciência, e por "sacrificar", muitas e muitas vezes os nossos finais de semana. Obrigada por trazer DEUS em nossas vidas. Obrigada por ter me dado um filho tão amoroso e cheio de alegria! Além de agradecer diariamente, peço a DEUS humildemente, que possamos juntos criar os "nossos filhos", realizarmos os nossos sonhos, e enfim, envelhecermos juntos!

AMO-TE para todo sempre... Amém!

E especialmente ao meu pequenino...

Filho Gustavo, que sem perceber ou se esforçar, tem dado sentido as nossas vidas, enchendo de Amor e Alegria os nossos dias, e que com a ingenuidade de uma criança nos faz acreditar em um mundo melhor. Você, pequeno bebê, me fez conhecer um Amor que somente os pais conhecem. Um Amor indescritível, inconseqüente e, acima de tudo incondicional. Sentir o seu cheirinho, seu hálito fresco... e ter o privilégio de amamentá-lo é uma dádiva de DEUS. Tão

pequenino e quão grande não é sua contribuição para a vida de todo nós! Aprendo com você todos os dias, e tenho como recompensa diária uma longa gargalhada e um belo sorriso de quem ri não só com os lábios, mas com o olhar de uma criança doce, amorosa e acima de tudo Feliz!

Meu querido filho TE AMO com todas as forças de uma mãe zelosa!

Aos amores da minha vida...

"Tudo que move é sagrado E remove as montanhas Com todo cuidado, meu amor Enquanto a chama arder Todo dia te ver passar Tudo viver a teu lado Com o arco da promessa Do azul pintado pra durar Abelha fazendo mel Vale o tempo que não voou A estrela caiu do céu O pedido que se pensou O destino que se cumpriu De sentir seu calor e ser todo Todo dia é de viver Para ser o que for e ser tudo Sim, todo amor é sagrado E o fruto do trabalho É mais que sagrado, meu amor A massa que faz o pão Vale a luz do teu suor Lembra que o sono é sagrado E alimenta de horizontes O tempo acordado de viver No inverno te proteger No verão sair pra pescar No outono te conhecer Primavera poder gostar No estio me derreter Pra na chuva dançar e andar junto O destino que se cumpriu De sentir seu calor e ser tudo".

Amor de Índio (Beto Guedes)

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

Agradeço especialmente...

A Camila Andrade Zamperini ("Camilinha"),

Pelo apoio, companheirismo, compreensão, auxílio e dedicação para o desenvolvimento e finalização desse trabalho. Tenha certeza que essa ânsia de viver e de aprender foram imprescindíveis para o crescimento de uma grande profissional. Mas acima disso, estão o seu carisma e seu apoio incondicionais e desinteressado, que me fizeram, acreditar, ainda mais no ser Humano e na Amizade! OBRIGADA, de coração, por ter sido meu "anjo da guarda", aqui na Terra!

O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis" (Fernando Pessoa)

A minha querida orientadora Profa. Ana Lúcia Machado ("Ana"),

Tudo começou como educadora, orientadora, e continuou como amiga e "mãezona"...Quem foi que disse que mãe não puxa a orelha?!...Puxa sim, quando preciso é! Pois bem, talvez por toda essa nossa longa caminhada, muitas coisas se passaram e muitas expectativas não se concretizaram... No entanto, fica para mim, a experiência de ter vivido bons momentos e momentos felizes na Remô. OBRIGADA por despertar em mim a ânsia do Saber e querer Aprender... Obrigada por ser esse exemplo de professor e educador, com tanta energia para o desenvolvimento acadêmico de seus orientados. Enfim, OBRIGADA por ter presença constante em minha vida!

"Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor."

(Goethe)

Agradeço...

A Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, representada por seu diretor, Prof. Dr. *José Claudio Martins Segalla*, que me proporcionou a formação no curso de Pós-Graduação.

Ao *Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral – Área de Prótese*, que exerceu a sua função durante o curso de Doutorado, com responsabilidade e seriedade, apoiando a realização de todos os trabalhos.

Aos Professores da Disciplina de Prótese Parcial Removível, Prof. Dr. Carlos Eduardo Vergani, Prof^a. Dr^a Eunice Teresinha Giampaolo e Prof^a. Dr^a Ana Claudia Pavarina, pelo convívio, amizade e dedicação durante a realização desse trabalho.

Em *Especial* ao *Co-orientador Prof. Carlos Eduardo Vergani*, pelo incentivo e entusiasmo para o Ensino e a Pesquisa. Obrigada por permitir o desenvolvimento desse estudo! Meus sinceros agradecimentos.

Ao *Prof. Carlos Alberto Costa*, chefe do *Departamento de Fisiologia e Patologia da FOAr*, meus sinceros agradecimentos pela gentileza em nos ceder a utilização de equipamentos e do laboratório para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada por compartilhar seus conhecimentos!

A *Prof^a Dr^a Denise Madalena Palomari Spolidorio* do *Departamento de Fisiologia e Patologia da FOAr*, meu muito Obrigada, por ceder o laboratório e compartilhar seus conhecimentos viabilizando essa pesquisa. Agradeço pela gentileza e amizade que nos deixaram à vontade para trabalhar nas dependências do departamento.

A *Prof^a Iracilda Zepponi Carlos* do *Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia – UNESP*, pela cooperação, confiança e gentileza no desenvolvimento do projeto piloto dessa pesquisa. Meus sinceros agradecimentos.

Ao *Prof. Dr. Peter Hammer*, Pesquisador convidado do Instituto de Química da UNESP, pela disponibilidade em realizar o XPS e por todas as explicações e orientações. Meus sinceros agradecimentos.

A *Prof^a Maria Elisabete Darbello Zaniquelli e Pós-Graduanda Tathyane*, da *Faculdade de Filosofia e Letras do Departamento de Química da USP*, meus agradecimentos pela receptividade, amizade, cooperação e disponibilidade para a realização das mensurações de ângulo de contato. Meu muito Obrigada!

Ao *Prof. Romeu Magnani*, *professor do Instituto de Química da UNESP e Estatístico*, meus sinceros agradecimentos por ter realizado a estatística desse trabalho, assim como pela amizade e cooperação dedicados ao longo de todos esses anos da minha permanência em Araraquara. Obrigada!

Ao químico *Jörg Erxleben*, responsável pela formulação dos vernizes experimentais avaliados nesse estudo. Obrigada por estar sempre disponível e resolver muitas dúvidas. Meus sinceros agradecimentos!

Ao *Técnico José Sampaio Zuanon ("Zé" da pato)*, meus agradecimentos pelos ensinamentos e gentileza de permitir a utilização do microscópio, essencial para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada!

A "TODOS" os Funcionários e Professores do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese pela convivência, amizade e respeito com que sempre me trataram.

Aos Funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de

Araraquara: Maria Helena, Ceres, Marley, Eliane, Maria Aparecida, Odete, Adriano, Eliane, Maria Inês, Silvia os quais sempre se mostraram solícitos e

prestativos nos momentos em que precisei.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de

Odontologia de Araraquara - UNESP: Mara, Rosangela, José Alexandre e

Flávia, pela atenção, paciência e vontade em cooperar.

Aos meus Colegas e Amigos do curso de Pós-Graduação Mestrado,

Doutorado e em especial ao "pessoal" da REMÔ, agradeço pela amizade,

companheirismo, solidariedade, paciência e boa vontade que sempre prestaram a

minha pessoa. Não citarei nomes para não cometer a injustiça de me esquecer de

alguém. Portanto, fica aqui meu *Grande Abraço* e meus votos de que sejam todos

muito felizes em suas escolhas de vida. Que DEUS abençõe todos vocês!!!

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

e ao *CNPq*, pela concessão de Bolsa de Doutorado e Auxílio pesquisa,

viabilizando a realização desse trabalho.

Ao Programa de Apoio a Pós-Graduação e Pesquisa (PROAP) pelo

auxílio financeiro, para a realização dessa pesquisa.

A todos aqueles, que embora não tenham sido citados, contribuíram de

forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Get yours now!

Se as coisas são inatingíveis... ora!

Não é motivo para não querê-las...

Zue tristes os caminhos, se não fora

A presença distante das estrelas!

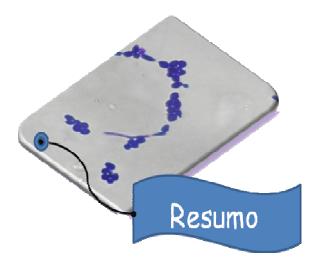
Das utopias, Mario Zuintana

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

Sumário

Resumo	15
Abstract	20
1. Introdução	23
2. Revisão da Literatura	29
3. Proposição	78
4. Material e Método	80
4.1. Confecção dos corpos-de-prova	80
4.2. Análise com XPS	86
4.3. Medida da rugosidade superficial	93
4.4. Aplicação dos vernizes experimentais	93
5. Mensuração do ângulo de contato para avaliar a hidrofobicidade da superfície	95
6. Esterilização dos corpos-de-prova	96
7. Testes Microbiológicos	97
7.1. Micro-organismo e condições de crescimento	97
7.2. Coleta, preparo e pré-tratamento dos corpos-de-prova com saliva humana	97
7.3. Adesão de C. albicans no corpo-de-prova	98
7.4. Ensaio de XTT	98
7.5. Coloração cristal violeta	99
8. Metodologia estatística	100
9. Resultado	102
10. Discussão	114
11. Conclusão	125
12. Referências	127
Anexo A	137
Anexo B	138
Apêndice 1	140
Anândica ?	1/11



pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

Lazarin AA. Efetividade de vernizes fotopolimerizáveis experimentais na redução da hidrofobicidade e adesão de *Candida albicans* em uma resina para base de prótese [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

Resumo

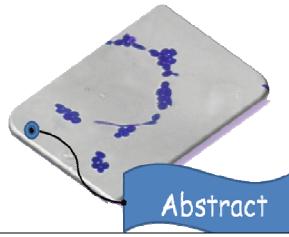
Foi proposto avaliar diferentes vernizes experimentais, que apresentam em sua formulação monômeros hidrofilicos ou zwiteriônicos, como método para modificar a superfície de resina acrílica para base de prótese, com o objetivo de prevenir a adesão de C. albicans. Foram confeccionados corpos-de-prova com características superficiais que simulavam a parte polida das próteses (superfície lisa) e com características superficiais que simulavam a parte interna das próteses (superfície rugosa) utilizando-se uma resina para base de prótese específica para micro-ondas (Vipi Wave). Matrizes metálicas com 10 cavidades (13,8 mm de diâmetro e 2 mm de altura) foram incluídas em mufla, entre 2 placas de vidro, para simular a superfície lisa, ou em contato com gesso para obter amostras que simulassem a superfície rugosa da prótese. Todos os corpos-de-prova foram submetidos à mensuração da rugosidade utilizando-se um rugosímetro (Mitutoyo SJ 400) com cutoff de 2,5 mm. A rugosidade superficial foi determinada (Ra-um) pela média de três mensurações realizadas em cada amostra. Após a leitura da rugosidade, os corpos-de-prova foram divididos em grupo controle (n=72; 36 lisos e 36 rugosos), não recebendo nenhum tratamento superficial, e 12 grupos experimentais (n=72; 36 lisos e 36 rugosos) que receberam uma camada do verniz experimental sendo polimerizado em forno EDG. Os vernizes experimentais apresentaram em sua composição o monômero metil metacrilato (MMA), dois agentes de ligação cruzada (TEGDMA e Bis-GMA) e o foto iniciador MBP (4metil benzofenona). Além desses componentes, os vernizes identificados pelos códigos P, E e T apresentaram monômeros hidrofílicos em 3 concentrações (25, 30 e 35%). O verniz identificado pelo código M apresentou um monômero zwiteriônico (MZ), nas mesmas concentrações. A adesão de Candida albicans sobre os corpos-de-prova, foi avaliada por 2 métodos: 1) ensaio de redução de 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)carbonyl]-2H-

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

tetrazolium hydroxide (XTT), por espectrofotometria; 2) técnica de coloração cristal violeta e leitura realizada em microscópio de luz em 10 campos do corpode-prova, selecionados de maneira aleatória, obtendo-se a média do número de células aderidas por área (mm²). Para a caracterização da superfície dos corposde-prova, após o tratamento, foram realizados 2 testes: 1) mensuração do ângulo de contato para avaliar a hidrofobicidade/hidrofobilidade da superfície; 2) análise com espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) para obter informações sobre a composição química da superfície. Para cada grupo, metade dos corpos-de-prova (lisos e rugosos) foi pré-condicionado em saliva previamente ao teste microbiológico. Os dados referentes às leituras de rugosidade, ensaio XTT e coloração cristal violeta foram analisados estatisticamente por Kruskal-Wallis e complementado por teste não-paramétrico de comparações múltiplas. Os resultados do ângulo de contato foram submetidos à análise de variância e complementada pelo teste de Tukey. O nível de significância para todas as análises foi de 5%. Os valores de rugosidade não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos dentro do mesmo método. Comparando-se os métodos, os valores dos corpos-de-prova polimerizados em contato com o gesso foram maiores que aqueles observados para os corpos-deprova confeccionados entre vidros. Os ângulos de contato dos corpos-de-prova com superfícies obtidas entre vidros, submetidos ao ensaio XTT (absosrbância), e tratados com M25, M30 e P35 apresentaram valores iguais entre si e menores quando comparados ao T35. Para as amostras obtidas em contato com o gesso, os grupos M35, P35, P25 e P30, submetidas ao XTT foram similares umas com as outras e menores comparados aos outros grupos, inclusive o controle. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre M35 versus P35 e P25 versus P30. Os corpos-de-prova rugosos M35, P25, P30 e P35 apresentaram valores de ângulo de contato menores comparados aos mesmos grupos lisos. Para os corpos-de-prova submetidos à coloração, os ângulos de contato para as amostras lisas, dos grupos P30 e P35 foram observados valores iguais e menores que os grupos tratados com E30, T25, T30 e T35. Para as amostras rugosas, os valores não apresentaram diferenças entre os grupos e entre as duas superfícies avaliadas. A avaliação da

adesão do micro-organismo Candida albicans demonstrou que para o ensaio do XTT a superfície obtida entre vidros não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados (liso). Para a superfície rugosa, o grupo controle apresentou os maiores valores de absorbância e os grupos M30, M35 e P30 indicaram valores menores. A saliva não apresentou diferença para os grupos avaliados. Comparando os dois métodos de confecção dos corpos-de-prova, para o ensaio XTT, o grupo controle rugoso apresentou valores de absorbância superiores comparado ao liso. Para a técnica de coloração cristal violeta foi observado que a ausência ou presença de saliva não influenciou os resultados. Os grupos M35, P35 e E35, liso e sem saliva, foram iguais entre si e menores quando comparados ao grupo controle. Para a superfície rugosa, os corpos-de-prova précondicionados em saliva apresentaram diminuição da adesão para os grupos M25, M30 e P30 quando comparados dentro do grupo, sendo que quando comparados aos outros grupos a saliva não evidenciou diferença. A avaliação estatística realizada entre os grupos detectou que a saliva não interferiu e que os grupos précondicionados, M25, M30 e M35 apresentaram valores menores de adesão comparados ao T35. Quando as duas superficies de corpos-de-prova foram comparadas verificou-se que M25, M30, P35, E30, E35 e T35, rugosos e na ausência de saliva, apresentaram valores maiores de absorbância comparados aos mesmos grupos lisos. O grupo M25 obtido nas mesmas condições, mas précondicionado em saliva indicou menor valor de absorbância comparado ao liso. A técnica de ensaio XTT utilizada para avaliar a adesão de *Candida albicans* parece ser mais sensível, para avaliar os vernizes, quando comparada a coloração cristal violeta. Diante dos resultados apresentados, os vernizes M e P parecem sugerir uma redução da adesão para o micro-organismo estudado.

Palavras-chave: Candida albicans, Hidrofobicidade, Resinas acrílicas



pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

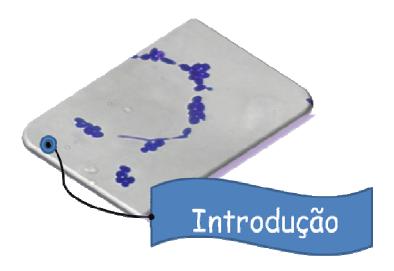
Lazarin AA. Effectiveness of experimental light-cured varnishes in reducing the hydrophobicity and adhesion of *Candida albicans* to a denture base acrylic resin [Dissertação de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the use of different experimental varnishes containing zwitterion or hydrophilic monomers as a manner to modify the surface characteristics of a denture base resin and prevent the adhesion of C. albicans. For such purpose, specimens with surface characteristics that simulated the polished side of the dentures and the inner side of the dentures were fabricated using a microwave-polymerized denture base acrylic resin (Vipi Wave). Hollow metallic matrices with 10 cavities (13.8 mm diameter x 2 mm high) were flasked either between two glass plates, in order to produce specimens with smooth surfaces that simulated the polished side of the dentures, or in direct contact with the stone, in order to obtain specimens with rough surfaces that simulated the inner side of the dentures. All specimens were subjected to surface roughness readings in a roughness meter (Mitutoyo SJ 400) with cutoff length of 2.5 mm. Surface roughness (Ra, μm) was determined as the average of three random measurements made on each specimen. After the roughness readings, the specimens were randomly assigned to one control group (n=72; 36 smooth and 36 rough specimens), in which the specimens received no surface treatment, and 12 experimental groups (n=72; 36 smooth and 36 rough specimens) in which the specimens were coated with one of the experimental varnishes followed by polymerization in an EDG oven. The 12 experimental varnishes presented in their composition the monomer methyl methacrylate (MMA), two crosslinking agents (TEGDMA and Bis-GMA) and a photoinitiator agent (4-methyl benzophenone – MPB). In addition to these components, the experimental varnishes labeled as P, E and T presented hydrophilic monomers at three concentrations (25, 30 and 35%). The experimental varnish labeled as M presented a zwitterion monomer at the same concentrations. The adhesion of Candida albicans to specimen surfaces was evaluated by two methods 1) 2,3bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT) reduction assay by spectrophotometry; 2) Crystal violet staining - in this method, 10 fields of each specimen were randomly selected and examined under light microscopy to determine the number of cells adhered *per* field (mm²). Two tests were performed for characterization of the specimen surface after varnish application: 1) Measurement of the contact angle to evaluate the superficial hydrophobicity; 2) X-ray photoelectron spectroscopy to determine the chemical composition of the surface. In each group, half of the smooth and rough specimens were exposed to saliva prior to the microbiological test. The data from roughness readings, XTT assay and crystal violet staining were analyzed statistically by the Kruskal-Wallis test complemented by nonparametric multiple comparisons. The contact angle data were subjected to analysis of variance and Tukey's test. A significance level of 5% was set for all analyses. The analysis of roughness data showed no statistically significant difference among the groups for the same method of specimen fabrication. Comparing the methods, all specimens polymerized in contact with the stone had higher roughness means those polymerized between glass plates. The contact angles of the specimens polymerized between glass plates, treated with the M25, M30 and P35 varnishes and subjected to the XTT assay were similar to each other, and lower than those of the specimens treated with the T35 varnish under the same conditions. The contact angles of the specimens polymerized in contact with the stone, treated with the M35, P35, P25 and P30 varnishes and subjected to the XTT assay were similar to each other, and lower than those of the other groups, including the control group. No statistically significant difference was found between M35 versus P35 and P25 versus P30. The specimens of the M35, P25, P30 and P35 groups polymerized in contact with the stone presented lower contact angles than the specimens of these groups polymerized between glass plates. The contact angles of the specimens polymerized between the glass plates, treated with the P30 and P35 varnishes and subjected to the crystal violet staining method were similar to each other, and lower than those of the specimens treated with the E30, T25, T30 and T35 varnishes under the same conditions. For the specimens

fabricated in contact with the stone, no statistically significant differences were observed among the groups or between the two methods evaluated. For the XTT assay, no statistically significant differences were found among the groups regarding the analysis of C. albicans adhesion to the specimens polymerized between the glass plates. For the specimens polymerized in contact with the stone, the control group presented the highest absorbance values, while the groups M30, M35 and P30 presented the lowest absorbance values. Exposure to saliva did not produce statistically significant differences among the groups. Comparing both methods of specimen fabrication for the XTT assay, the control group obtained in contact with the stone presented higher absorbance values compared to those of the control specimens fabricated between glass plates. For the crystal violet staining technique, exposure or not to saliva did not influence the results. The specimens of M35, P35 and E35 groups polymerized between glass plates and without exposure to saliva showed similar results to each other and presented higher values compared to the control group. The specimens of M25, M30 and P30 groups polymerized in contact with the stone and exposed to saliva presented a decrease in the adhesion of C. albicans when the results were analyzed within each group. When M25, M30 and P30 groups were compared to the other groups, the exposure to saliva showed influence on the results. The M25, M30 and M35 groups exposed to saliva presented lower values of C. albicans adhesion compared to group T35. Comparing both methods of specimen fabrication, the specimens of M25, M30, P35, E30, E35 and T35 groups prepared in contact with the stone and not exposed saliva presented higher absorbance values. The specimens of the M25 group fabricated under the same conditions but exposed saliva showed lower absorbance values compared to method that used glass plates. The use of the XTT assay to evaluate the adhesion of *C. albicans* appeared to be more sensitive to evaluate the varnishes than the crystal violet staining technique. Based on the obtained results, the varnishes M and P seemed to provide a reduction in *C. albicans* adhesion to the evaluated denture base resin.

Key Words: Candida albicans, Hydrophobicity, Acrylic resins.



pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

Introdução

Candida spp. são fungos existentes na cavidade bucal, com predominância da Candida albicans, que, usualmente, são comensais e, portanto, não causam alterações patológicas⁷⁶. Entretanto, são fungos oportunistas que, dependendo da debilidade do sistema imunológico do indivíduo, podem causar desde uma infecção mucocutânea superficial, denominada candidose, até uma infecção sistêmica¹. Os indivíduos usuários de próteses removíveis, parciais ou totais, apresentam susceptibilidade para o desenvolvimento da estomatite protética, um tipo de candidose caracterizada pela presença de áreas eritematosas na mucosa que mantém contato com a superfície interna das próteses^{3,49}. Com relação à sintomatologia, essa patologia é, na maioria dos casos, assintomática, podendo, ocasionalmente, estar associada com sintomas, como prurido, ardência, dor, sabor desagradável, desconforto, hemorragia na mucosa bucal, alteração no paladar, halitose e xerostomia⁷⁸. A estomatite protética é a lesão bucal mais frequentemente observada em usuários de próteses removíveis^{5,15} e, associada a ela, podem ainda ser encontradas outras alterações como a queilite angular e a glossite rombóide mediana⁷⁸. Além disso, nos casos de pacientes imunossuprimidos, como os portadores de leucemia aguda e HIV positivo, pode ocorrer a disseminação das espécies de *Candida* da cavidade bucal para o trato gastrointestinal superior ou vias sanguíneas, desenvolvendo fungemia³³.

O tratamento mais comumente recomendado para a estomatite protética tem sido a utilização de medicamentos antifúngicos, os quais podem ser de aplicação tópica ou sistêmica. Na terapia tópica, antifúngicos como a nistatina e o miconazol são comumente indicados, entretanto, apesar de aliviarem sinais e sintomas da doença, não eliminam o micro-organismo^{31,33}. Antifúngicos do grupo dos polienos, como anfotericina B e nistatina, ou pertencentes ao grupo dos azóis, como itraconazol e fluconazol, têm sido utilizados por meio da terapia sistêmica³³. Entretanto, a administração da anfotericina B e de outros medicamentos sistêmicos induzem efeitos hepatotóxicos e nefrotóxicos³³. Outra desvantagem

relacionada à utilização dos antifúngicos, tópicos ou sistêmicos, é a resistência dos micro-organismos a esses medicamentos, que tem sido apontada como uma das principais causas do insucesso desse tipo de terapia ³¹.

Vários estudos têm demonstrado que as colônias de Candida spp. são isoladas, mais frequentemente, da superfície interna das próteses totais, quando comparada à mucosa correspondente^{4,39}, o que pode causar reinfecção da mucosa do paciente ^{17,18}. Esse achado, associado à recorrência da estomatite protética, após a suspensão da terapia antifúngica⁴, indicam que o tratamento dessa patologia deve incluir também a inativação dos micro-organismos presentes nas próteses 18,65. A superfície interna das próteses apresenta irregularidades e microporosidades, com profundidade que varia de 1,0 a 2,0 micrômetros, o que facilita a penetração e proliferação de micro-organismos patogênicos¹⁴. Em função desse aspecto, a higienização, por meio da escovação, pode não remover completamente esses micro-organismos⁶. Além disso, pacientes idosos apresentam diminuição na acuidade visual e na destreza manual, tornando necessária a associação da escovação com a imersão das próteses em soluções desinfetantes. Dentre as soluções avaliadas, podemos destacar o glutaraldeído a 2% ⁵⁶, o hipoclorito de sódio^{7,53}, o dióxido de cloro ⁷ e a clorexidina⁵³. Apesar de efetivas na inativação dos micro-organismos, estas soluções desinfetantes apresentam limitações, como possíveis efeitos citotóxicos⁶² e alterações nas propriedades físicas e mecânicas das resinas acrílicas utilizadas na confecção das próteses 35,56,61.

Outro método que tem sido proposto para a desinfecção das próteses é a irradiação com energia de micro-ondas^{4,56,76}, que apesar de ser um método promissor, pode resultar em alterações das propriedades físicas dos materiais utilizados na confecção das próteses. Tem sido observado que resinas acrílicas para base e para reembasamento imediato apresentaram redução na resistência à flexão⁵² e aumento na alteração dimensional (contração), quando submetidas à desinfecção com micro-ondas²¹. Campanha et al.¹², em 2005 observaram que, após esse tipo de desinfecção, algumas marcas comerciais de dentes artificiais também apresentaram diminuição nos valores de dureza. Embora alguns

autores^{37,61}, utilizando tempos menores de exposição às micro-ondas, tenham verificado a inativação dos micro-organismos sem alteração das propriedades mecânicas, outros estudos ainda são necessários para que esse método possa ser recomendado.

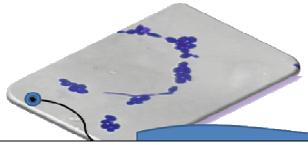
Os métodos de tratamento descritos têm como objetivo a inativação dos micro-organismos após a colonização das próteses. Entretanto, tendo em vista que a adesão desses micro-organismos na superfície da resina acrílica constitui o prérequisito para sua colonização e, conseqüentemente, ocorrência da estomatite protética ^{8,9,30}, o desenvolvimento de métodos que possam minimizar ou prevenir a adesão da *Candida albicans* sobre a superfície interna das próteses poderia trazer avanço significativo no tratamento dessa patologia.

Vários métodos têm sido propostos para modificar a superfície dos biomateriais utilizados na confecção de implantes cardiovasculares, circulação extracorpórea, catéteres e sensores intravenosos, com o objetivo de prevenir a formação de coágulos e torná-los compatíveis com o sangue⁴¹. Entre esses métodos, podemos citar o desenvolvimento de polímeros que mimetizam a estrutura natural das biomembranas⁴¹. As células sanguíneas apresentam o folheto interno de suas membranas com característica trombogênica e presença de fosfolipídios com carga negativa (forma aniônica). Por outro lado, o folheto externo é compatível com o sangue, sendo composto por fosfolipídios na forma zwiteriônica (íon dipolar), que apresentam tanto cargas positivas como negativas. mas, eletricamente neutros⁷⁷. Assim, a utilização de polímeros que apresentam em sua formulação grupos zwiteriônicos, como a fosfatidilcolina^{32,41}, mimetizando a estrutura natural das biomembranas⁴¹, tem sido proposta para modificar a superfície de biomateriais, como celulose²⁵ e polietileno^{23,24,51}, por meio de técnicas como "grafting"²⁵ ou "coating"²³. Os resultados têm evidenciado significativa redução na adsorção de proteínas^{24,32} e na adesão de plaquetas ^{24,32}, tendo essa redução sido atribuída à formação de uma camada de adsorção organizada de fosfolipídios sobre o biomaterial, tornando a sua superfície compatível com o sangue^{32,41}. Outro mecanismo que justifica essa redução é a formação de camadas estruturadas de água na superfície do material ^{26,32,41}, o que pode prevenir a alteração conformacional das proteínas^{26,41}, tornando-as, consequentemente, não aderentes às superfícies ou facilmente removidas^{26,41}. Embora os polímeros fosfolipídicos tenham sido primariamente desenvolvidos para melhorar a compatibilidade dos biomateriais com o sangue, alguns estudos têm indicado que a sua utilização também pode reduzir a adesão de microorganismos patogênicos ao polietileno^{23,51} e a outros biomateriais, como látex, silicone e polivinilcloreto (PVC) 32. Entretanto, esses polímeros, além de exigirem métodos complexos para sua obtenção, não estão disponíveis no mercado nacional, o que resulta em custo elevado e limita sua aplicação⁷⁷, sobretudo na reabilitação oral de pacientes por meio de próteses removíveis. Mais recentemente, outros monômeros zwiteriônicos (sulfobetaínas) têm sido propostos para modificação da superfície de biomateriais^{34,77,81}, por apresentarem custo mais acessível. Os resultados também têm demonstrado significativa redução na adesão de plaquetas⁸¹. Com relação à adesão de bactérias, a aplicação desses monômeros sobre a superfície de discos de polimetilmetacrilato proporcionou redução na adesão de Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermidis Staphylococcus aureus, tendo sido observado que o copolímero contendo maior porcentagem de sulfobetaína foi mais efetivo^{34,77}.

Além dos compostos citados, os polímeros hidrofílicos também têm sido avaliados nas pesquisas com biomateriais. Esses polímeros, quando em contato com a água, apresentam comportamento diferente dos demais compostos citados, principalmente quando comparado aos polímeros fosfolipídicos. Ishihara et al.²⁶, em 1998, demonstraram que os polímeros fosfolipídicos possuem maior quantidade de "água livre", indicando que as moléculas de água presentes na superfície desses materiais possuem estrutura similar àquela de uma solução aquosa. Segundo os autores²⁶, essa estrutura seria responsável pela maior redução da adsorção de proteínas observada com estes polímeros, quando comparados aos polímeros hidrofílicos. Apesar das diferenças em relação aos polímeros fosfolipídicos, os polímeros hidrofílicos, como o polivinilpirrolidona, têm sido aplicados como "coatings" na superfície de silicone utilizado na confecção de catéteres. Ao se hidratar os catéteres revestidos com esses polímeros, as moléculas

de água unem-se ao material, tornando-o mais liso e hidrofílico, prevenindo a colonização bacteriana. Os resultados obtidos por Çagavi et al. 11, em 2004, suportaram estas hipóteses, tendo em vista que a adesão de Staphylococcus epidermidis foi menor nos catéteres revestidos com polímero hidrofílico, comparados aqueles sem modificação de superfície. De acordo com Andrade et al.², em 1992, a adsorção de proteínas em superfícies neutras hidrofílicas apresenta-se relativamente fraca, enquanto em superfícies hidrofóbicas, essa adsorção tende a ser muito forte e, parcialmente, irreversível. Foi encontrada também uma relação quase linear entre o número de Candida albicans aderidas por unidade de área e o ângulo de contato do substrato, ou seja, quanto mais hidrofóbica a superfície, maior a aderência de *Candida* por unidade de área²⁹. Segundo esses autores, a aderência de *Candida spp.* às superfícies plásticas é predominantemente controlada por forças hidrofóbicas, designadas de forças de atração London van der Waals. Assim, a alteração da característica da superfície interna das próteses, tornando-a mais hidrofílica, poderia reduzir a adesão de micro-organismos, particularmente da Candida spp., cuja aderência a substratos sólidos, incluindo os polímeros, está relacionada, principalmente, com a energia de superfície e, consequentemente, a tensão interfacial²⁹.

Estes resultados sugerem que a superfície dos materiais utilizados na confecção das bases de próteses poderia ser modificada, prevenindo que essas superfícies atuem como fonte de contaminação e reinfecção da mucosa bucal²³. Nesse contexto, polímeros hidrofílicos ou à base de sulfobetaína poderiam ser utilizados para reduzir a adesão de micro-organismos nas próteses e estudos específicos com *Candida albicans* são necessários para avaliar a efetividade desse método para a prevenção da estomatite protética.



pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

2. Revisão da Literatura

Utilizando 50 pacientes com estomatite protética e que usavam próteses superiores, parciais ou totais, e outros 50 pacientes que também usavam próteses superiores, mas com ausência de qualquer alteração inflamatória (controles), Davenport18 (1970) estudou a distribuição oral de Candida, por meio de várias análises: coleta de material da mucosa inflamada dos pacientes e da superfície das próteses em contato com essa mucosa; cultura de saliva estimulada coletada sem as próteses; cultura de réplicas obtidas da mucosa do palato e das próteses de 8 pacientes com estomatite protética; e biópsias da região afetada também de 8 pacientes que apresentavam a lesão. Considerando os resultados obtidos dos materiais coletados das próteses e da mucosa dos pacientes, o autor verificou presença de micro-organismos em 98% dos pacientes com estomatite protética, contra 60% dos pacientes do grupo controle. Além disso, foi observada grande concentração de células de *Candida* em 94% dos materiais coletados das próteses, comparado com 34% do material das mucosas, nos pacientes com estomatite protética. Por outro lado, no grupo controle, 28% dos materiais das próteses tinham grande quantidade de Candida, comparado com 2% da mucosa. Nos casos com estomatite protética, todos os pacientes apresentaram hifas e lêvedos nos materiais coletados. Entretanto, nos pacientes controles, as hifas foram vistas em apenas 1/3 dos pacientes positivos, o restante apresentou apenas a forma de levedura. A cultura de réplica demonstrou o mesmo padrão dos materiais coletados. Já com a cultura da saliva, a presença de C. albicans foi confirmada em 70% dos pacientes com estomatite protética, possivelmente pela remoção das próteses para a coleta de saliva. No exame das biópsias, nenhuma Candida foi visualizada o que sugere que a invasão tecidual por elas raramente ocorre. Portanto, o autor concluiu que existe uma associação entre estomatite protética e proliferação de *Candida*, principalmente no biofilme originado das superfícies das próteses, comparado àquele da mucosa do palato. Isso indica que o tratamento que objetiva diminuir a quantidade de *Candida* presente deveria ser direcionado às próteses.

Em 1980, Samaranayake et al63 avaliaram in vitro vários fatores que poderiam influenciar a adesão de C. albicans MRL 3153 em superficies acrílicas. Técnicas in vitro foram realizadas para avaliar o efeito da sucrose, glicose, galactose, xylitol, saliva estimulada da parótida e misturada, soro e Streptococcus salivarius sobre a adesão em superfícies acrílicas. Previamente foram obtidas amostras de resina acrílica transparentes nas dimensões de 5 x 5 x 0,5 mm de espessura. Para a contaminação das amostras foi preparada C. albicans cultivada em Sabouraud por 18 horas a 37°C. Quatro alçadas desta cultura foram inoculadas em peptona micológica com ou sem suplemento de acúcares e incubadas pelo mesmo período. A seguir a cultura foi centrifugada a 1700g por 20 min e o precipitado foi lavado com PBS. A suspensão foi, então, ajustada para 4,0 a 4,3 x 107 cel/mL. A saliva utilizada para o pré-condicinamento das amostras foi coletada de indivíduos saudáveis. A saliva não-estimulada foi obtida por expectoração do doador. E a saliva estimulada da parótida foi coletada utilizando 10% de ácido cítrico com uma xícara de "Carlson-Crittenden modificado". Ambas foram centrifugadas a 40.000g por 30 min a 4°C. As amostras foram préincubadas por 18 h a 37°C para formação da película de saliva. O soro também utilizado para o pré-condicionamento das amostras foi obtido de dois indivíduos saudáveis e armazenado a -20°C. As amostras foram incubadas por 18h a 37°C previamente a adesão. O efeito do pré-condicionamento com clorexidina nas concentrações 0,2% (30 minutos) e 2% (15 seg e 30 minutos) na adesão do fungo foi realizado com as amostras. O excesso de clorexidina após a incubação foi removido por meio de agitação vigorosa. A alteração do meio de cultura peptona, utilizado para o crescimento de C. albicans, foi realizado para verificar se esta modificação interferiria na adesão do micro-organismo comparado a peptona sem alteração. Foi adicionado um dos açúcares: sucrose, glicose, lactose e xilitol (esterilizados por 3 dias) a uma solução de 2% de peptona micológica para preparar uma concentração de 0,5M de cada açúcar. O fungo foi cultivado nesses

meios por 18h a 37°C e a adesão do micro-organismo foi comparada com o crescimento em peptona sem adição de açúcares. Neste estudo foi investigado, também, o efeito da bacteria oral comensal Spreptococcus salivarius (NCTC 7366) na adesão de *Candida albicans* sobre superficies acrílicas. Após a aplicação das variáveis no estudo as amostras de resina acrílica foram acondicionadas em placas de cultura, posicionadas verticalmente, e contaminadas com a suspensão de C. albicans em PBS, permanecendo incubadas por um período de 1 hora em um agitador a temperatura ambiente. Após o período de incubação as amostras foram lavadas cinco vezes por 15 segundos, manualmente, em PBS. Em seguida, o fungo aderido na superficie da resina acrílica foi fixado em metanol e corado pela técnica de Gram modificada. O experimento foi realizado em duplicata e a contagem das células fúngicas foi expressa em cel/mm2. Cada experimento foi repetido de 6-11 vezes. Em seus resultados os autores encontraram que a C. albicans cultivada com uma dieta rica em sucrose apresentou maior adesão sobre a superficie das amostras da resina acrílica. A mistura de saliva utilizada no experimento in vitro reduziu significativamente a aderência de C. albicans na superficie. Em relação ao pré-tratamento com clorexidina foi verificado que a clorexidina não produziu nenhum efeito na adesão na concentração de 0,2% normalmente utilizada em soluções para bochecho. A pré-incubação com a bacteria Spreptococcus salivarius reduziu a aderência de Candida. Os autores concluiram que a adesão de C. albicans para superficies acrílicas pode ser influenciado por vários fatores existentes intra-oralmente e se esses fatores exercem ação comparável in vivo, eles podem regular a colonização de fungos sobre as próteses, exercendo um papel importante na patogênese da candidose atrófica crônica.

Klotz et al.29 (1985) avaliaram a afinidade hidrofóbica das células fúngicas por avaliação bifásica água-hidrocarbono e medida de ângulo de contato dos micro-organismos e dos substratos (politetrafluorretileno –Teflon; Polietiltereftalato - PET, polimetilmetacrilato - PMMA e poliestireno) objetivando a caracterização biofísica da aderência de *Candida* spp. às superfícies poliméricas.

Além disso, os autores estudaram o envolvimento das forças eletrostáticas no processo de aderência, por meio da alteração da carga de superfície fúngica por bloqueio seletivo dos grupos amino e carboxil. Os resultados obtidos demonstraram que a hidrofobicidade fúngica correlacionou bem com a tendência dos micro-organismos de aderirem-se ao poliestireno, independente do método utilizado (medida do ângulo de contato e avaliação bifásica água-hidrocarbono), exceto para a Candida krusei, o que pode indicar que essa espécie possui um mecanismo adicional envolvido na aderência. Com relação à aderência fúngica aos polímeros, foi evidente que houve uma relação linear entre o número de células aderidas por unidade de área e o ângulo de contato do substrato, ou seja, quanto mais hidrofóbica a superfície, maior a aderência celular por unidade de área. Quando os autores avaliaram as alterações de cargas realizadas nas superfícies fúngicas, eles observaram que a carga positiva nos fungos ocasionou uma alteração do comportamento de aderência, tornando-os, consideravelmente, mais aderentes. Diante disso, os autores concluíram que as interações eletrostáticas repulsivas realmente existem, porque na ausência delas, a aderência é aumentada. Eles ainda puderam supor que essas interações eletrostáticas, embora presentes e capazes de influenciar a cinética de aderência são menores quando comparadas às simultâneas forças atrativas de London-van der Walls, ou hidrofóbicas, considerando que mesmo na presença delas (forças repulsivas) a adesão ocorre. Por esse motivo, segundo Klotz29, (1985), as interações eletrostáticas repulsivas são sobrepostas pelas simultâneas forças atrativas de London-van der Walls.

Em 1986, Minagi et al.38 utilizaram 21 materiais resinosos, a C. albicans IFO 1385 e a C. tropicalis IFO 1400 com o objetivo de examinar o efeito da hidrofobicidade de superfície dos substratos na aderência microbiana. Entre os materiais resinosos utilizados, 9 eram termopolimerizáveis, 2 autopolimerizáveis, 9 reembasadores de próteses resilientes e 1 polissulfeto. Os corpos-de-prova, com dimensões de 10 x 10 mm e superfícies lisas, foram contaminados por 1 hora a 37 °C, com suspensões fúngicas em uma concentração de 107 células/ml para

Candida albicans e 10⁵ células/ml para Candida tropicalis. Após esse período, os mesmos foram lavados em PBS, fixados com formaldeído e metanol, corados com violeta cristal e analisados em microscopia. A contagem das células aderidas foi realizada em 10 campos (14 mm2) para cada uma das amostras (n = 7) e a média entre eles obtida. Além disso, foram realizadas medições dos ângulos de contato dos substratos e das células fúngicas. Os autores observaram que o aumento do ângulo de contato dos materiais estudados resultou em um aumento no número de células aderidas para Candida tropicalis, enquanto uma diminuição foi observada para Candida albicans. Além disso, foi notada uma relação entre a energia livre de superfície da resina, obtida por meio dos valores de ângulos de contato, e a aderência dessas duas espécies, ou seja, o aumento da energia livre da resina resultou em aumento da aderência de Candida albicans, por outro lado, uma diminuição da aderência de Candida tropicalis. Os autores concluíram que a presença de correlação entre a alteração de energia livre e aderência fúngica sugere que a interação hidrofóbica é um importante fator na adesão inicial dos fungos às superfícies resinosas.

O estudo de McCourtie et al.36 (1986) investigou o efeito da clorexidina no crescimento e na aderência fúngica na presença de saliva e soro. Para isso os autores utilizaram cinco cepas de *Candida albicans* (MRL 3153; GRI 682; GDH 2346; GDH 2023; GDH 3212), uma de *Candida tropicalis* (GDH 1160) e uma de *Candida glabrata* (GDH 820) que foram pré-tratadas com saliva misturada não estimulada ou soro, ambos de vários doadores, por 30 minutos à temperatura ambiente. Após esse pré-tratamento e previamente ao teste de aderência, os autores mantiveram os corpos-de-prova com gluconato de clorexidina a 2%, também por 30 minutos à temperatura ambiente. O teste de aderência foi realizado com suspensões fúngicas padronizadas (2.5 x 109 células/ml em PBS) e o número de células aderidas determinadas por microscopia. A contagem dessas células foi realizada em 30 campos, em cada uma das duplicatas das 10 avaliações independentes. Os resultados obtidos demonstraram que a aderência de todas as cepas de *Candida* foi reduzida pelo pré-tratamento da resina acrílica com a saliva,

entretanto, o pré-tratamento com o soro nas mesmas condições, aumentou a adesão fúngica. Por outro lado, o tratamento da resina acrílica com clorexidina a 2%, coberta ou por soro ou pela saliva, reduziu a aderência das espécies de *Candida* avaliadas. Essa inibição da aderência fúngica persistiu por 19 dias depois da exposição da resina acrílica ao gluconato de clorexidina. Diante disso, os autores concluíram que a lavagem das próteses acrílicas com gluconato de clorexidina a 2% por 15 a 30 minutos seria uma medida efetiva no tratamento da Candidíase Atrófica Crônica e que seu uso regular seria útil na prevenção da recorrência dessa patologia

Nikawa et al.44 (1993) estudaram as interações entre as películas protéicas derivadas da saliva, soro humano, mucina e lisozima do ovo de galinha sobre um condicionador tecidual (GC Soft Liner) e a Candida albicans, por meio do monitoramento das alterações de pH e análise da colonização fúngica em microscopia eletrônica de varredura. Mistura de saliva não estimulada foi coletada de um único doador saudável. Cada uma das soluções protéicas (500 ul) foi adicionada sobre os discos (15 mm x 1,5 mm) de superfícies lisas posicionados, individualmente, em orifícios de placas de cultura e incubados por 3 h a 37 °C. Após esse período, as soluções foram aspiradas e a suspensão fúngica (105 cél/ml) foi inoculada e incubada por 2 h a 37 °C a fim de promover a aderência e colonização fúngica. Subsequentemente, 2 ml de caldo Sabouraud modificado foi dispensado em cada orifício e incubado por 120 h a 37 °C. As alterações de pH no meio de crescimento foram monitoradas em intervalos de 3 - 6 horas. Cada experimento foi realizado em duplicata em três diferentes ocasiões. Para análise em microscopia eletrônica de varredura, as amostras foram removidas, lavadas com água destilada estéril e fixadas com glutaraldeído. Os resultados obtidos demonstraram que depois de uma ligeira queda inicial, o pH do meio diminuiu rapidamente e, então, alcançou um platô depois de 70 h. Embora não tenha existido nenhuma diferença significante na redução de pH associada com as diferentes películas de proteínas, essas causaram alterações nos padrões de crescimento fúngico. Enquanto os materiais recobertos com saliva ou soro foram densamente colonizados com blastoporos e hifas, os materiais recobertos com lisozima e mucina exibiram crescimento relativamente esparso composto exclusivamente por blastoporos. Além disso, naqueles recobertos com saliva, a invasão de hifas no material foi também observada. Portanto, a saliva e o soro parecem potencializar os atributos de virulência de *Candida* na medida em que promovem a indução e invasão de hifas nos materiais protéticos e crescimento fúngico, podendo induzir que possíveis mediadores da estomatite induzida desenvolvam a *Candida*.

Um estudo para avaliar a possibilidade de penetração de bactérias na resina acrílica após curto período de exposição ao inóculo foi realizado por Chau et al.14 (1995). Os corpos-de-prova de três resinas acrílicas foram polidos apenas em uma das superfícies, a fim de simular as superfícies externa e interna (não polida) de uma prótese. Em seguida, os corpos-de-prova foram imersos, por 24 horas, em um meio de cultura contendo bactérias gram-positivas e gramnegativas. Os corpos-de-prova contaminados foram, então, imersos em uma das soluções desinfetantes avaliadas (iodóforo, dióxido de cloro e hipoclorito de sódio a 0,525%) ou em uma solução salina estéril por 10 minutos (controle). Após a desinfecção, os dois lados dos corpos-de-prova foram submetidos à coleta de material para as semeaduras em placas de Petri. Essas placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas e o número de colônias quantificado. Os autores observaram, pelas análises das culturas, que os corpos-de-prova tratados com iodóforo ou dióxido de cloro apresentaram um número de colônias significantemente inferior ao número apresentado pelos corpos-de-prova do grupo controle. Por outro lado, os corpos-de-prova imersos em hipoclorito de sódio não apresentaram colônias viáveis nas placas de Petri. Os autores concluíram que a resina acrílica pode ser contaminada com bactérias, tanto superficial como profundamente, e que o tratamento com hipoclorito de sódio, comparado aos outros desinfetantes, foi mais eficiente na inativação dos micro-organismos.

Samaranayake et al.63 (1995) investigaram a hidrofobicidade de vinte isolados clínicos de Candida krusei e 5 isolados de Candida albicans, e compararam os valores obtidos com os respectivos valores de aderência dessas espécies às superfícies acrílicas e às células epiteliais (HeLa), obtidos em estudo anterior. Os resultados demonstraram que os isolados de Candida krusei apresentaram maior afinidade à fase hidrocarbono, ou seja, maior hidrofobicidade, comparados aos isolados de Candida albicans. Os autores afirmam que essa diferença entre as duas espécies estudadas pode ser devido às características estruturais da parede celular da Candida krusei. Na verificação da relação entre hidrofobicidade da superfície celular e aderência, correlação positiva foi observada apenas com a Candida krusei e as células (HeLa). Os autores citam a existência de outras forças não específicas, além da hidrofobicidade da superfície celular, envolvidas na fixação das células fúngicas aos aparelhos médicos. Portanto, o atributo de alta hidrofobicidade da superfície celular isoladamente, seria inadequado para justificar a patogenicidade de um micro-organismo. Os autores explicam diferenças nos resultados encontrados por eles e estudos anteriores baseados no tamanho da amostra (cinco isolados de C. albicans) e nas condições ambientais, visto que, dependendo dessas condições, as células fúngicas podem alterar suas características celulares. Diante dos resultados, os autores concluíram que a hidrofobicidade da superfície celular dessas células fúngicas é mais um fator que atua juntamente com outros atributos de virulência, tais como, a produção de enzimas extracelulares e a formação de hifas, para determinação da virulência.

A proposta do estudo de Nikawa et al.47 (1997) foi verificar o efeito da dieta de açúcar na formação do biofilme de *Candida* sobre película de saliva/soro em superfícies acrílicas utilizando 3 isolados de *Candida albicans* (GDH 16, GDHI 8 e GDH19), 2 isolados de C.glabrata (IFO 0005 e GDH 1407) e 2 de C. tropicalis (IFO 1070 e GDH 1362). Uma alçada de *Candida* foi cultivada em YNB contendo glicose 250 mM e cultivada a 37 °C aerobicamente. Após o crescimento "overnight", as células foram centrifugadas e lavadas duas vezes em

PBS e ressuspensas a concentração final de 105cel/ml. Foram confeccionadas amostras de resina acrílica termopolimerizável Bio resin (Shofu) utilizando matrizes nas dimensões 50 x 50 x 0,7 mm, e polimerizadas em muflas, a 70 °C, por 90 minutos adicionados de 30 minutos a 100 °C. As amostras foram polimerizadas entre vidros para se obter uma superfície lisa e foi cortada em quadrados de 10 x 10 x 0,7 mm. A saliva não estimulada para o experimento foi obtida de 5 doadores adultos e saudáveis, sendo, após a coleta, centrifugada a 12000 g por 15 minutos a 4 °C. O soro foi adquirido da Sigma Chemical e ambos, saliva e soro, após o preparo foram estocados a -25 °C. As amostras de resina acrílica foram posicionadas no interior de placas de cultura e sobre elas foram dispensadas 500 µl da solução de proteína (saliva ou soro) para cada orifício da placa, sendo a seguir incubadas por 1 hora a 37 °C. Após esse período, a solução foi aspirada e 50 ml da suspensão de *Candida* (1 x 10⁵cel/ml) foi inoculada em cada orifício e incubada a 37 °C por 2 horas para promover a aderência e colonização. Subsequentemente, YNB contendo 100 mM de glicose ou 500 mM de galactose foi dispensado cuidadosamente em cada orifício e incubados por 0, 12, 24, 48, 72 e 96 horas a 37 °C. Após esses períodos, cada amostra de resina acrílica foi lavada com água destilada em três tempos, totalizando 60 segundos, para remoção dos organismos não aderidos e o teste ATP (adenosina trifosfato bioluminescente) foi realizado. Os resultados demonstraram que, quando as amostras do grupo controle (sem cobertura de soro ou saliva) foram comparadas, houve maior formação de biofilme para uma das cepas de C. tropicalis (IFO 1070), no meio de cultura contendo galactose. Para esse mesmo meio, as cepas de C. glabrata demonstraram menor formação de biofilme. Para as amostras recobertas com saliva e soro, o meio com galactose demonstrou menor atividade de formação de biofilme em comparação com o meio contendo glicose para todas as cepas, com exceção da C. tropicalis (IFO 1070). Quando o efeito das diferentes películas na atividade do biofilme foi analisado, a presença da película aumentou significativamente a atividade do biofilme para todos os isolados de C. albicans e para um dos isolados de C. tropicalis. Os resultados obtidos com o experimento sugerem que a dieta rica em glicose e galactose pode modificar a formação do biofilme produzido pelas espécies de *Candida*, sobre superfícies acrílicas de prótese. E que a película de proteína deve ser considerada uma variável importante. Em termos clínicos, esses resultados, juntamente com observações prévias sobre o efeito do carboidrato na produção de ácido carboxílico, aspartil proteinase e produção de fosfolipase pelos fungos, demonstram que a adesão do micro-organismo na superfície hospedeira está relacionada à dieta de açúcar.

O efeito da rugosidade de superfície em relação à retenção de C. albicans foi avaliado por Verran, Maryan,74 em 1997, por meio da contaminação de corpos-de-prova de polimetilmetacrilato (PMMA) e silicone com diferentes rugosidades, ou seja, superfícies lisas ou rugosas. Após o período de adesão de 1 hora a 24 °C em suspensões fúngicas padronizadas (1,29 x 107 células/ml), os corpos-de-prova contaminados foram cuidadosamente lavados, fixados com metanol por 1 minuto, e corados com "acridine orange". A contagem das células aderidas foi realizada em microscopia de fluorescência, por meio da contagem de 10 campos e obtenção da média de células aderidas por unidade de área. Os autores observaram maior número de células nas superfícies rugosas comparadas às superfícies lisas do PMMA. Além disso, quando compararam as superfícies rugosas PMMA e do silicone, houve maior aderência ao silicone. Os autores concluíram que o aumento na rugosidade de superfície, seja nas superfícies de resina acrílica ou silicone, facilita a retenção fúngica.

Waters et al,75 em 1997, avaliaram a capacidade de adesão da C.albicans em dois materiais resilientes experimentais, comparando os resultados com a resina resiliente Molloplast-B e a resina acrílica para base de prótese Trevalon, ambas encontradas comercialmente. O material experimental resiliente nº 1 consistia de um elastômero que contém um polímero (dimetilpolisiloxano) e carga de sílica com a superfície tratada. O material experimental nº 2 possuía uma carga, com superfície tratada, diferente da primeira que não causa uma alta absorção de água. Para a obtenção dos corpos-de-prova foram utilizadas matrizes metálicas altamente polidas (10 mm x 10 mm x 3 mm) para garantir a reprodutibilidade das

superfícies das amostras, que foram preparadas de acordo com as instruções de cada fabricante sendo, em seguida, armazenadas em água estéril, por 24 horas, para saturação. Para o estudo foram utilizados três tipos de Candida albicans, a cepa GRI 681 (com baixa aderência ao epitélio e superfícies inertes) e as cepas CDH 667 e 674, isoladas de pacientes com estomatite protética e candidose hiperplásica crônica, respectivamente. As células dos micro-organismos foram enumeradas com hemocitômetro e diluídas em PBS à concentração de 107cel/ml. Para o pré-condicionamento dos corpos-de-prova, foi coletada saliva não estimulada de 5 voluntários, centrifugada a 10.000 g por 15 minutos a 4 °C. A seguir, o sobrenadante foi pré-filtrado em membrana de 0.45 □m e, subsequentemente, em membrana de 0.22 □m. Os corpos-de-prova foram imersos nesta saliva, à temperatura ambiente, por 30 minutos sob leve agitação. Em seguida, foram incubados, à temperatura ambiente, em placas de petri estéreis contendo 20 ml de suspensão fúngica durante uma hora. As amostras foram lavadas duas vezes, gentilmente, em PBS por um minuto. Após serem secas, as células aderidas foram fixadas em metanol e coradas. Para os materiais resilientes foi utilizado o corante cristal violeta por 30 segundos. Para a resina acrílica opaca foi utilizado o corante "acridine orange" (0,003% em 2,5% de ácido acético). Todos os materiais foram lavados em PBS por 30 segundos e examinados em microscopia de fluorescência ("acridine orange") ou microscópio de luz (cristal violeta). O teste microbiológico foi realizado em triplicata e repetido em duas ocasiões distintas. Foram calculadas as médias e desvio padrão para todos os casos e comparação com o teste t, seguida de ANOVA e a correlação de Bonferroni. Os resultados demonstraram que, para os materiais experimentais, houve uma menor aderência de Candida comparada à resina Trevalon e Molloplast-B. A adesão das diferentes cepas demonstrou variação estatisticamente significante em todos os casos, exceto entre as cepas CDH 667 e CDH 674, as quais aderiram ao Molloplast-B e ao material experimental nº 2. O précondicionamento dos materiais com saliva resultou em uma significativa redução nos níveis de aderência. Os autores concluíram que não houve uma relação conclusiva entre a energia livre de superfície dos materiais e o nível de aderência de *Candida*. O efeito da cobertura com saliva reduziu a aderência de C. albicans para todos os materiais, fato pode ter ocorrido devido ao processo de filtragem da saliva que reteve proteínas como a mucina que pode aumentar a aderência de *Candida*. O resultado mais significativo, segundo os autores, foi a menor aderência do micro-organismo sobre os materiais experimentais quando comparados aos materiais encontrados comercialmente Trevalon e Molloplast-B.

O entendimento dos mecanismos e a significância clínica da adesão de Candida albicans aos materiais de base de prótese em relação ao biofilme protético e a estomatite relacionada à prótese foram revisados por Radford et al.57, em 1999. A etiologia da estomatite protética é discutida e, embora muitos estudos afirmem que ela seja fortemente associada com a Candida albicans, existem outros que não apontam claramente essa associação, porque, em muitos indivíduos, a causa parece estar relacionada ao biofilme não específico. Além disso, essa revisão considera o papel do biofilme na patogênese da estomatite protética, e seu desenvolvimento e colonização pelas espécies de Candida. Os autores encontraram que estudos in vivo controlados são difíceis e, consequentemente, muitos pesquisadores têm realizado estudos in vitro, tentando investigar, principalmente, a hidrofobicidade da Candida albicans, relacionando com a energia livre dos materiais para base de prótese, particularmente a resina acrílica. Inesperadamente, poucos estudos têm sido direcionados à rugosidade de superfície e como ela afeta a retenção dos micro-organismos. Além da rugosidade, também não tem sido dada atenção às outras propriedades e características de superfície e nos mecanismos por meio dos quais elas afetam a adesão. A comparação dos resultados de estudos de adesão in vitro com relação ao efeito da pré-cobertura das superfícies com saliva demonstra conclusões controversas. Isso é devido, principalmente, à falta de padronização dos protocolos experimentais entre os estudos, particularmente, na coleta e manipulação da saliva utilizada. Segundo os autores, esta revisão suporta claramente a sugestão de que a aderência de Candida albicans aos materiais para base de prótese in vitro é relacionada à hidrofobicidade dos micro-organismos. A significância clínica da observação e

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

dos mecanismos de desenvolvimento e maturação do biofilme protético precisa ainda ser entendida. Os autores consideram que há necessidade clara de maiores investigações de outros fatores que podem modular a adesão dos microorganismos e colonização subseqüente dos materiais para base de prótese.

O objetivo do estudo de Nikawa et al.45 (2000) foi investigar o crescimento de Candida albicans em materiais reembasadores resilientes disponíveis comercialmente recobertos com películas protéicas (saliva ou soro), e ainda, avaliar o efeito da termociclagem na aderência fúngica, por meio do monitoramento das alterações de pH do meio de crescimento. Discos (10 mm x 10 mm x 0,7 mm) com superfícies lisas foram confeccionados com uma resina acrílica (Bio Resin®) e sete materiais reembasadores resilientes (Soften®, Nissin Soft Reverse®, Mollosil®, Evatouch®, Tokuyama Soft Relining®, Molloplast B® e Kurepeet Dough®). Previamente ao teste de aderência, amostras de cada material foram termocicladas (0, 1000, 10.000 vezes) e pré-tratadas com saliva ou soro por 1 hora a 37 °C. A mistura de saliva não estimulada foi coletada de cinco doadores saudáveis e preparada por centrifugação de 12.000 x g por 15 minutos a 4 °C. O teste de aderência foi realizado com Candida albicans IFO 1385 padronizada em 107 cél/ml por 2 horas a 37 °C. Subsequentemente, 2 ml de caldo Sabouraud foi dispensado em cada orifício, incubado por 120 h a 37 °C e as alterações de pH no meio de crescimento foram monitoradas. Cada experimento foi realizado em quadruplicata em três diferentes ocasiões. Os autores também avaliaram o efeito inibitório dos materiais reembasadores resilientes sobre o crescimento de Candida albicans. Os autores observaram que os materiais reembasadores resilientes, quando comparados com a resina acrílica, demonstraram efeitos inibitórios no crescimento da Candida albicans, particularmente, Kurepeet Dough® e Molloplast B® não recobertos e não termociclados foram os mais efetivos e demonstraram efeitos inibitórios diretos. Entretanto. 0 efeito fungicida foi significantemente diminuído termociclagem, o que sugere que esse efeito foi derivado de componentes não polimerizados. As películas protéicas estudadas, a saliva ou soro, diminuíram o

efeito inibitório dos reembasadores resilientes e facilitou o crescimento fúngico nos materiais quando comparados com as amostras não recobertas. Portanto, alguns materiais reembasadores resilientes comerciais exibem atividade antifúngica, mas essa atividade é significantemente diminuída pela termociclagem ou película protéica, o que sugere que o controle apropriado do biofilme dental é essencial para o uso clínico, a longo prazo, de materiais reembasadores resilientes.

Propriedades superficiais dos materiais utilizados para confecção das próteses são importantes do ponto de vista clínico, uma vez que podem interferir no acúmulo de biofilme, manchamento e conforto do paciente. A rugosidade superficial, particularmente, provoca retenção e aderência de Candida albicans e pode estar relacionada à estomatite protética. Zissis et al.82 (2001), considerando esses aspectos, avaliaram a rugosidade de resinas para base de prótese e resinas reembasadoras. Para confecção dos corpos-de-prova, foram selecionadas quatro resinas para base de prótese (Microbase, Trevalon, MC Acron, SR 3/60 Plus), nove resinas reembasadoras rígidas (Light Liner Hard, Triad Reline, Lighton-U, Triad DualLine, Rebaron LC, Astron LC, Rebaron, Probase Cold, SR3/60 Triplex) e sete resinas reembasadoras resilientes (Perform Soft, Light Liner Soft, Resiline, Astron LC, Mollosil, Mollosil + varnish, Molloplast B, Molloplast B + varnish, Permaflex + varnish). Cinco corpos-de-prova de cada material foram obtidos e armazenados em água destilada, a 37 °C, durante um mês, previamente aos testes. Cinco leituras de rugosidade, por mapeamento (scanning), foram realizadas em cada amostra e o valor médio de rugosidade (Ra) obtido. Os resultados evidenciaram que os valores de Ra obtidos para os materiais avaliados variaram de 0,7 a 7,6 micrômetros, sendo que para os materiais para base de prótese esses valores variaram entre 3,4 e 7,6 micrômetros. Entre esses materiais, os menos rugosos foram: a resina SR3/60 Plus (resina termopolimerizável de alto impacto) e a Trevalon (resina termopolimerizável convencional). As duas resinas acrílicas termopolimerizadas em micro-ondas exibiram maiores rugosidades de comparadas termopolimerizadas superfície àquelas convencionalmente. Considerando os materiais reembasadores rígidos, os valores de Ra variaram entre 0,7 e 4,4 micrômetros, enquanto os valores para os materiais reembasadores resilientes auto, foto e termopolimerizáveis foram de 0,7 a 4,1. Como os materiais testados exibiram rugosidades maiores do que 0,2 micrômetros, que é considerado o limiar abaixo nenhuma redução da aderência de fungos e bactérias pode ser esperada, os autores concluíram que há possibilidade de acúmulo de biofilme em todos os materiais testados.

A colonização de Candida albicans em 15 materiais bucomaxilofaciais foi investigada por Nikawa et al.43 (2001), por meio da análise de ATP (adenosina trifosfato). Discos (10 mm x 10 mm x 0,7 mm) com superfícies lisas foram confeccionados com uma resina acrílica (Bio Resin®) e quinze materiais bucomaxilofaciais (Astron LC Hard®, Astron LC Soft®, Cosmesil HC®, Cosmesil T001®, Episil®, Ever Soft®, Ideal®, Resiline®, Light Liner Hard®, Light Liner Soft®, Lightdon-U®, PER form®, Rebaron LC®, Rebaron®, Silkskin 2000®). Previamente ao teste de aderência, amostras de cada material foram termocicladas (4 – 70 °C por 1 minuto, respectivamente; 0, 1000, 10.000 vezes) e pré-tratadas com saliva ou soro por 1 hora a 37 °C. A mistura de saliva não estimulada foi coletada de cinco doadores saudáveis e preparada por centrifugação de 12.000 g por 15 minutos a 4 °C. O teste de aderência foi realizado com Candida albicans IFO 1385 padronizada em 107 cél/ml por 2 horas a 37 °C e para quantificação da colonização fúngica, análise de ATP foi realizada. As medidas foram realizadas em quadruplicata em três diferentes ocasiões. Os resultados obtidos demonstraram que nas amostras controles (sem recobrimento protéico e sem termociclagem) a colonização fúngica apresentou-se dependente do tipo de material, sendo que a menor colonização foi observada com os materiais adicionados de silicone, enquanto os materiais de polimerização com luz visível exibiram a maior colonização fúngica e os materiais acrílicos autopolimerizáveis exibiram níveis intermediários de colonização. Foi observado aumento da colonização fúngica, na presença das películas protéicas e da termociclagem. Ao analisar a inter-relação entre a colonização de microorganismos e a hidrofobicidade de superfície dos materiais, a colonização fúngica nos materiais termociclados (1000 e 10.000 ciclos) correlacionou bem com os ângulos de contato dos materiais, sendo consistente com a teoria termodinâmica. Os autores concluíram que a idade do material e os fluidos biológicos promovem a colonização fúngica nos materiais bucomaxilofaciais.

Embora a candidose oral seja frequentemente encontrada em indivíduos idosos, os fatores que determinam o crescimento da Candida não foram suficientemente explorados. Por isso, Tanida et al.71 (2001) examinaram a influência da idade e dos agentes inibitórios do crescimento presentes na saliva na aderência de Candida. Para isso, os autores avaliaram 45 voluntários saudáveis (controles) e 60 pacientes com candidíase oral. Os resultados demonstraram que as taxas de fluxo salivar estimulado e não-estimulado nos indivíduos controles diminuíram com a idade. Uma diminuição gradual dos fluxos salivares (estimulado e não-estimulado) também foi observada nos indivíduos com candidíase oral, e quando esses indivíduos foram comparados aos controles, taxas, significantemente, menores de fluxos salivares foram observadas. Embora, os níveis de glicose salivar foram quase constantes em todas as idades consideradas, os níveis de imunoglobulina A secretória e lactoferrina na saliva diminuíram, assim como, uma diminuição nos níveis de transferrina também foi observada com o aumento da idade. Além disso, a atividade dos neutrófilos e sua atuação contra a Candida também diminuíram com a idade, sendo esse achado mais evidente nos indivíduos com candidíase oral. Um maior número de Candida aderida aos queratinócitos orais obtidos dos idosos saudáveis (controles) do que nos jovens saudáveis (controles) foi encontrada. Correspondentemente, queratinócitos dos idosos (controles) apresentaram mais receptores para Candida comparados aos jovens (controles). Entretanto, a Candida oral não aumentou com o aumento da idade nos indivíduos saudáveis, embora um aumento associado à idade foi observado nos indivíduos com estomatite protética. Portanto, os autores concluíram que a diminuição dos fluxos salivares (estimulados e não-estimulados) e dos fatores anti-Candida salivares, a supressão da função neutrófila salivar e o aumento dos receptores para *Candida* nos queratinócitos predispõem indivíduos idosos à candidose oral.

Panagoda et al.48 (2001) correlacionaram a adesão de 24 isolados de Candida parapsilosis e 12 isolados de Candida albicans às células epiteliais bucais humanas e avaliaram a adesão dos isolados de acordo com a origem, sistêmicos e superficiais, de *Candida parapsilosis*. Finalmente, os autores também investigaram a correlação entre a adesão de Candida parapsilosis às células epiteliais bucais humanas e às superfícies acrílicas e sua hidrofobicidade de superfície celular. Da C. parapsilosis 13 teve origem de infecções superfíciais e 11 de infecções sistêmicas. Os micro-organismos foram identificados pelo teste do tubo germinativo e re-confirmado utilizando o teste API, sendo, ainda caracterizado por eletroforese. As culturas foram mantidas a -40 °C. Uma alçada da cultura de estoque foi semeada em Ágar glicose Sabouraud e incubada a 37 °C por 18 horas. Para o procedimento de adesão, uma alçada dessa cultura recémcultivada foi transferida para o meio BHI e incubada a 37 °C por 18 horas, lavada duas vezes em PBS por meio de centrifugação a 3500 g por 10 minutos e utilizadas no experimento. As células fúngicas foram padronizadas para todo o experimento pelo contador hemocitométrico. As células epiteliais bucais foram coletadas de três doadores masculinos saudáveis (32-45 anos) utilizando um swab estéril. As células foram coletadas, em cada ocasião, no mesmo horário do dia para minimizar o efeito da variação diurna sobre a qualidade das células epiteliais bucais na aderência fúngica. As células epiteliais bucais foram lavadas duas vezes e ressuspensas em PBS a uma concentração de 1 x 105 cel/ml utilizando hemocitômetro de Neubauer melhorado. As amostras acrílicas foram confeccionadas de acordo com Samaranayake & MacFarlane. Foi utilizada resina transparente autopolimerizável, homogeneizada no interior de uma lâmina de alumínio interposta entre vidros. Após a obtenção as amostras, essas foram armazenadas em água destilada por uma semana para liberação do monômero residual, e então, lavadas em água corrente durante 3 horas. As amostras foram cortadas assepticamente em quadrados mensurando 5 x 5 mm, os quais foram

colocados em ultrassom por 20 minutos. A aderência das células epitelias bucais na Candida foi realizado de acordo com Kimura, Pearsall. Resumidamente, volumes iguais (0,5 ml) de células epiteliais bucais (1x105 cel/ml) e suspensão celular de Candida (1x10⁷cel/mL) foram misturados e incubados a 37 °C por 1 hora sob agitação. As células foram, então, filtradas em filtros de policarbonato de 12 □m. Os filtros foram lavados com 70 ml de PBS para remover células não aderidas que foram colocadas cuidadosamente em lâminas de vidro limpas com ácido crômico. As lâminas foram então secas com ar, fixadas com etanol absoluto por 1 minuto e coradas com Gram. O número de células de Candida aderidas às primeiras 50 células epiteliais bucais foram contadas utilizando microscópio de luz (x40). A fase de adesão nas amostras de resina acrílica foi realizada em placas com orifícios de 5 mm de diâmetro. Uma alíquota de 0,4 ml de suspensão de Candida (1x10⁷cel/mL) foi adicionada em cada orifício e incubada por 1 hora a 37 °C sob leve agitação. A seguir, as amostras foram lavadas em água destilada estéril, secas com ar e coradas utilizando coloração de Gram modificada. Após a secagem, à temperatura ambiente, elas foram montadas em lâminas de vidro com glicerol e as células aderidas foram quantificadas utilizando um analisador de imagem. Trinta campos foram aleatoriamente contados em cada amostra, em aumento de 400 vezes. As amostras foram utilizadas em duplicata para cada experimento e o número médio de células por 60 campos foi finalmente expresso em células por unidade de área. A hidrofobicidade foi lida por meio da redução percentual da densidade óptica da cultura de Candida utilizando filtro de 520 nm (absorbância). Para comparação foi utilizada uma suspensão sem adição de xileno como controle negativo. Todo o experimento foi realizado em três ocasiões separadas com duplicata em cada ocasião. A adesão de 24 isolados de C. parapsilosis apresentaram uma adesão marginalmente maior para células do epitélio bucal, comparada à C. albicans, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significante. Os valores de C. parapsilosis variaram de 23,5 a 154,30 para 50 células epiteliais bucais comparados com a variação de 21,6 a 62,83 para 50 células epiteliais bucais para C. albicans. O isolado superficial de C. parapsilosis demonstrou 51,5% maior aderência quando comparado ao isolado sistêmico, sendo que não houve diferença entre a adesão dos isolados superficiais cutâneos e orais. Os autores encontraram uma correlação positiva entre a hidrofobicidade da superfície celular (CSH) da C. parapsilosis e a adesão inicial e colonização das superfícies avaliadas (células epiteliais bucais e resina acrílica). Segundos os autores esse é o primeiro estudo que documenta a adesão de vários isolados de C. parapsilosis em células epiteliais bucais e a associação da hidrofobicidade da superfície celular ligada diretamente à adesão a superfícies acrílicas.

O objetivo do estudo de Sipahi et al.69, 2001, foi avaliar in vitro o efeito da película de saliva sobre a molhabilidade e a energia de superfície de diferentes materiais para base de prótese. Foram obtidos 10 espécimes de cada material (20 x 20 x 1,5 mm) com superfícies bem polidas. Uma lâmina de cera foi colocada entre vidros e incluída em mufla, sendo em seguida aquecida por 5 minutos para amolecer e eliminar a cera, esse molde foi utilizado para a resina termopolimerizada (QC-20). Para a resina injetada (Palapress), a resina polimerizada por meio de micro-ondas (Acron Mc) e a autopolimerizável (Takilon) foi utilizada duas superfícies de vidro, e a polimerização realizada de acordo com instruções do fabricante. A resina fotopolimerizável (Triad) foi polimerizada em uma lâmina entre vidros sem a inclusão em mufla. Após a obtenção, as extremidades das amostras acrílicas foram polidas cuidadosamente para as mensurações de ângulo de contato. Para o procedimento foram utilizadas lixas com granulação 400, 600 e 800, seguidas de disco com pedra pomes, escova em roda com óxido de alumínio (5□m) e escova macia em roda com pasta de polimento (Ivoclar). As amostras metálicas (liga de Co-Cr e Ti) foram fundidas e polidas da mesma maneira que a superfície de uma estrutura metálica de prótese parcial removível. Esses espécimes foram jateados e então submetidos à eletrólise por 5 minutos em uma câmera de eletrólise. Os espécimes foram conectados ao ânodo e a temperatura da solução foi de 30-40 °C e a corrente utilizada foi de 1A. As amostras foram limpas em ultrassom por 5 minutos com um cotonete imerso em sabão e então enxaguado em água corrente quente. Eles foram então imersos

em ultrassom contendo uma mistura de água e metanol por 10 minutos. A água foi então substituída por água-metanol e as amostras foram lavadas, em ultrassom, por 10 minutos adicionais. Essa operação foi repetida 3 vezes em água destilada estéril. Segundo os autores, esse procedimento ajuda a obter superfícies mais claras necessárias para a determinação das medidas reais. Mensurações de ângulo de contato foram realizadas antes e após a cobertura com saliva. A saliva utilizada foi obtida de um único doador saudável. Após a coleta, o tubo refrigerado foi imediatamente centrifugado a 20.000 g por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi armazenado a -20 °C antes do uso. As amostras foram incubadas com saliva por 2 horas a 37 °C. Após a formação da película, as amostras foram levemente lavadas com água destilada para remover detritos. A seguir as amostras foram secas com ar morno, antes das mensurações realizadas para cada material, coberto ou não com saliva. Para a mensuração do ângulo de contato foram utilizados os líquidos diiodometano, etileno glicol e formamida para a determinação da interação ácidobase. As amostras foram, primeiramente, lavadas com acetona e água destilada e secas para cada mensuração. Médias, desvio padrão e erro padrão foram calculados para todos os parâmetros. Para cada tipo de material, foram preparados 10 espécimes recobertos ou não com saliva e os resultados submetidos à análise estatística. O menor componente da energia de superfície dos materiais que não foram recobertos com saliva foi obtido com o material Ti. Todos os materiais exibiram diminuição da energia de superfície após o recobrimento com saliva. O componente da energia de superfície de Lewis das amostras de resina fotopolimerizável recobertas com saliva foi significativamente maior comparado aos outros materiais. A cobertura com saliva diminuiu significativamente os componentes ácidos de Lewis de todos os materais exceto para a resina fotopolimerizável e metálico à base de Ti. O estudo demonstrou que entre as resinas testadas, a fotopolimerizável e a resina termopolimerizada possuem maior molhabilidade comparada aos outros materiais, sugerindo que a resina termopolimerizada deve ser a melhor escolha para o uso clínico. Os autores concluíram em seu estudo que a cobertura com saliva diminuiu a energia livre de superfície de todos os materiais, em aproximadamente 10%. Além disso, foi observado que as superfícies de todos os materiais adquiriram características básicas após cobertura com saliva. Esse tratamento é um fator importante de determinação das propriedades de molhabilidade dos materiais protéticos. A saliva não reproduziu a mesma superfície dos componentes de energia nos diferentes substratos. A propriedade adesiva da saliva ainda pode ser influenciada pelo substrato utilizado.

O desenvolvimento de um modelo reprodutível de biofilme protético de Candida albicans é um importante instrumento utilizado no estudo das características fenotípicas e genotípicas dessa espécie fúngica e no entendimento do mecanismo de resistência a drogas. Considerando o exposto, Chandra et al.13 (2001) descreveram o desenvolvimento e otimização de um modelo reprodutível de biofilme oral associado com Candida albicans. Os autores utilizaram esse modelo desenvolvido para determinar a susceptibilidade de Candida albicans crescida em biofilme comparada com as células planctônicas. Para isso, os autores testaram dois isolados de Candida albicans contra quatro agentes antifúngicos: anfotericina B, fluconazol, nistatina e clorexidina. Baseados nos experimentos realizados pelos autores foi selecionado o inóculo de 107 células/ml, o tempo de adesão de 90 minutos e o tempo para formação de biofilme de 72 horas como condições ótimas para crescimento de biofilme de Candida albicans em material protético. Os açucares testados suportaram a formação do biofilme para as duas cepas de Candida. Mas, a glicose foi a que mais intensificou a formação do biofilme, seguida pela galactose, e a sacarose. As análises de peso seco e XTT demonstraram que a massa de biofilme e a atividade metabólica foram significantemente aumentadas quando pré-tratados com saliva, comparadas com os controles (sem saliva). Similarmente, a adição de saliva durante a formação de biofilme também resultou em intensificação no crescimento de biofilme e na atividade metabólica. A saliva não estimulada, coletada de cinco doadores, foi filtrada e o tempo de pré-tratamento utilizado foi de 2 a 3 horas. O XTT revelou que uma redução de 50% da atividade metabólica para as cepas de Candida albicans crescidas em biofilme foi alcançada com concentrações antifúngicas de 8, 16, 128 e maior que 64 microgramas/ml para anfotericina B, nistatina, clorexidina e fluconazol, respectivamente. Essa mesma redução para células planctônicas foi obtida com as concentrações de 0,25, 1, 4 e 0,5 microgramas/ml, respectivamente. Diante dos resultados obtidos, os autores concluíram que a *Candida albicans* crescida em biofilmes protéticos exibe resistência à anfotericina B, nistatina, clorexidina e fluconazol superior comparada com as células planctônica

Considerando-se que uma cobertura polimérica com ligações cruzadas apresentaria vantagens adicionais de estabilidade e possibilitaria ancoragem da mesma ao substrato, Lewis et al.32 avaliaram as características físicas e biológicas de um recobrimento polimérico com ligações cruzadas resultantes de um processo de termopolimerização. A fim de produzir elasticidade e melhoria significante nas características físicas desse recobrimento, a quantidade do agente de ligação 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato foi balanceada. Coberturas poliméricas, por MPC (2-metacriloiloxietil fosforilcolina), LMA compostas (lauril metacrilato), HPMA (2-hidroxipropil metacrilato) e TSMA (3-trimetoxisililpropil metacrilato), foram preparadas a 62°C por 16 horas, tendo o etanol como solvente. A caracterização física dessa cobertura foi realizada por meio de microscopia de força atômica (MFA) e nanoindentação. Ensaio de adsorção de proteínas, microscopia eletrônica de varredura (MEV) em contato com o sangue e ensaio de adesão bacteriana fizeram parte da caracterização biológica da cobertura polimérica. A MFA revelou que a inclusão de 5 mol% de agente de ligação cruzada (TSMA) é a quantidade ideal em que ocorre a ligação cruzada, de maneira homogênea, por todo o polímero. Com relação à temperatura, os autores observaram que, pelo menos, 60°C é necessário para polimerização total. A cobertura polimérica produzida sobre o vidro e o aço inoxidável apresentou-se uniforme com baixos níveis de rugosidade, conforme indicado pelo exame da topografia de superfície. Os resultados obtidos com o teste de nanoidentação revelaram que a cobertura com ligações cruzadas comportou-se elasticamente, diferente daquela cobertura em que as ligações cruzadas não estavam presentes.

Biologicamente, os resultados demonstraram que houve redução da adsorção de proteínas e células sanguíneas, assim como diminuição da adesão de E. coli, indicando, respectivamente, excelente compatibilidade sanguínea desse polímero e baixa tendência de adesão bacteriana. Diante disso, os autores concluíram que polímeros são muito úteis como materiais de cobertura por melhorar a biocompatibilidade ou reduzir os níveis de aderência bacteriana aos aparelhos médicos.

Bruinsma et al.10, 2001, determinaram em seu trabalho as propriedades físico-químicas da superfície de sete diferentes isolados bacterianos provenientes de infecções oftálmicas e de lentes de contato hidrogel hidrofílicas e hidrofóbicas na presença e ausência de biofilme ocular. Alem disso, avaliaram a adesão de duas cepas, P. aeruginosa#3 e Sthaphylococcus aureus 799, variando as propriedades físico-quimicas da superfície celular, para ambas as lentes com e sem filme adsorvido. A P. aeruginosa#3 e as três cepas de sthaphylococcus foram précultivadas do freezer em 10 mL de TSB, enquanto as três cepas de Serratia foram pré-cultivadas em BHI por 24 horas a 37 °C a temperatura ambiente. Dessa cultura foi retirado um segundo inoculo de 200 ml da cultura de TSB ou BHI, os quais foram colocados para crescer por 18 horas. A P. aeruginosa#3 foi centrifugada por 5 minutos a 9600xg, e as outras cepas pelo mesmo tempo a 4000xg, lavadas duas vezes com água Millipore e ressuspendida em água Millipore para mensuração das características da superfície. A bactéria gram negativa foi submetida à sonicação média por 30 segundos a 30W causando o menor dano possível para o experimento de adesão. Esta superfície celular diminuiu a hidrofobicidade pelo ângulo de contato com a água da superfície celular pela exposição noturna em solução para cuidado de lentes de contato (Renu multi-purpose, Bausch-Lomb). A sonicação foi realizada intermitentemente ao resfriamento e apresentou menor efeito sobre a viabilidade dos organismos. Para os experimentos de adesão uma gram-positiva, hidrofílica, S. aureus 799 foi ressuspendida a densidade de 3x108 células por mL em 0,9% de salina e a gram negativa, hidrofóbica, P. aeruginosa#3 foi ressuspendida a densidade de

3x108células por mL em 0,9% de salina suplementada com 2% de TSB para estimular a adesão. Para o teste foram utilizadas 3 lentes (com 36% de água) com superfície hidrofóbica hidrogel (CL B), com grupos iônicos. Para a superfície hidrofílica (CL A) um grupo de 4 lentes iônicas (com 58% de água) foi utilizada. Para a adsorção dos componentes da lágrima, a mesma foi coletada de um voluntário saudável após a estimulação com sopro de ar no olho. Uma alíquota de 25 µL de lágrima recobriu a lente colocada em uma superfície convexa permanecendo por 18 horas, a temperatura ambiente, prevenindo a desidratação. Para a mensuração do ângulo de contato, as bactérias ressuspendidas em 10 mL de água demineralizada foram colocadas em um filtro de membrana de acetato de celulose (diâmetro do poro 0,45µm) sobre um suporte de vidro e filtradas com pressão negativa. Os filtros contendo as bactérias foram colocadas sobre um disco metálico e secos com ar, de 30 a 60 minutos. As mensurações do ângulo de contato sobre o lado convexo da CL foi realizado com aparelho avançado pela técnica de gotejar sobre a superfície monitorando o contorno por um monitor. Todos os ângulos de contato foram mensurados a 25°C e as lentes não foram desidratadas. As mensurações do zeta potencial foram realizadas para aferir a carga eletrostática da superfície celular da bactéria, sendo realizado a 25°C em 0,9% de salina. Uma descarga de 150V foi aplicada sobre uma carga bacteriana a fim de verificar o movimento para o eletrodo positivo ou negativo e qual a velocidade, calculando-se o zeta potencial. O teste XPS foi realizado para se conhecer a química da superfície da CL na ausência e na presença de filme lacrimal. Teste de AFM foi realizado na CL, a imagem das amostras pode ser vista em três dimensões em três locais selecionados em uma lente. A média de rugosidade foi calculada (Ra). A presença do biofilme ocular diminuiu a diferença na hidrofobicidade da supeficie de duas lentes diferentes, mas quimicamente o filme ocular adsorvido na superfície hidrofóbica e hidrofílica são diferentes. Em geral foi demonstrado que as propriedades físico-quimicas da superfície da bactéria infecciosa e da lente é determinada da ausência ou presença dos componentes do biofilme ocular adsorvido.

Park et al. 50 (2003) investigaram a capacidade de uma resina para base de prótese com superfície modificada reduzir a adesão de Candida albicans. O material avaliado foi incorporado com carga negativa por copolimerização do ácido metacrílico ao metilmetacrilato (MMA). Para isso, amostras com dimensões de 11 x 5 mm e superfícies altamente polidas foram confeccionadas e divididas em quatro grupos, sendo um controle e três experimentais: controle (MMA); 5% de ácido metacrílico e 95% de MMA; 10% de ácido metacrílico e 90% de MMA; 20% de ácido metacrílico e 80% de MMA. Além do teste de aderência realizado com a Candida albicans ATCC 36082 e quantificação das células aderidas microscopicamente após coloração com violeta cristal as medidas de ângulo de contato das amostras também foram realizadas. Os resultados obtidos demonstraram que, na medida em que a proporção de ácido metacrílico aumentou, a área de superfície de Candida aderida e a medida de ângulo de contato diminuíram. Essa hidrofilização das superfícies com proporções aumentadas de ácido metacrílico confirmou a modificação dos valores de energia de superfície das resinas experimentais. A análise quantitativa da área de superfície de C. albicans aderida apontou que a diminuição mais significante da adesão foi observada quando a proporção de ácido metacrílico foi aumentada de 5% para 10%. Esse resultado coincide com as medidas de ângulo de contato, que demonstraram a maior diminuição quando a proporção de ácido metacrílico também foi alterada de 5% para 10%. Baseados nos resultados encontrados, os autores concluíram que, na medida em que as resinas tornaram-se mais hidrofílicas com aumento do ácido metacrílico incorporado, houve diminuição significante na adesão de C. albicans foi observada.

Henriques et al.22 (2004) compararam cepas de *Candida albicans* 12A e 46B, ambas isolados clínicos, e *Candida dubliniensis* CBS7987 e CBS7988, no que diz respeito à capacidade de se aderirem ao acrílico e a hidroxiapatita. Os corpos-de-prova (8 mm x 8 mm x 2 mm) de hidroxiapatita (HAP) e acrílico autopolimerizável, após realização das medidas de rugosidade, foram utilizados para estudos de adesão e de propriedades de superfície. Para o teste de adesão, 2

ml da suspensão fúngica padronizada a 10⁷ cél/ml, em água ou saliva artificial, foram colocados sobre os corpos-de-prova posicionados, individualmente, em placas de cultura celular, por 1 hora (100 rpm a 37 °C). Transcorrido esse período e após lavagem de cada orifício, por meio de pipetagem com água ultrapura, foi realizada a coloração das amostras com SYTO-13 por 5 minutos para observação em microscopia de epifluorescência. As análises de propriedades de superfície realizadas foram: o XPS (espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X), o Zeta Potencial e a medida do ângulo de contato das células fúngicas e dos substratos. Os resultados referentes ao teste de adesão demonstraram que ela foi principalmente influenciada pelo tipo de material, sendo que maior aderência fúngica foi observada para a HAP, e o meio líquido onde a adesão ocorreu, considerando que a saliva artificial aumentou a aderência fúngica apenas ao acrílico. Para cada tipo de material, nenhuma diferença estatística foi encontrada entre o número de células aderidas entre as cepas estudadas. A análise do XPS evidenciou que as cepas apresentaram proporções de componentes da parede celular similares. Na medida do ângulo de contato, as quatro cepas demonstraram valores similares de tensão superficial e predominantemente doação de elétrons, mas na presença de saliva artificial, aumento nos parâmetros de receptor de elétrons foi verificado. Ao contrário do acrílico, considerado hidrofóbico, todas as cepas de Candida, em todas as condições, foram consideradas hidrofílicas, assim como a HAP. A análise dos elementos do acrílico e da HAP condicionados com água ou saliva indicou que a saliva alterou a composição de superfície de ambos os materiais com relevância especial para a HAP. Considerando que os resultados fornecem uma similaridade de características fenotípicas da C. albicans e da C. dubliniensis, com relação às propriedades físico-químicas de superfície, a adesão de cepas de Candida aos dentes e às próteses é similar na presença de saliva artificial, o que pode indicar que ambas as superfícies são, igualmente, importantes reservatórios de infecções de Candida.

O estudo de Jin et al.27, em 2004, caracterizou a adesão e formação de biofilmes de C. albicans dentro de uma variedade de condições ambientais

comumente encontradas intraoralmente, quantificando-os por meio do XTT e da medida de ATP, assim como pela estimativa de CFU, a fim de que esses três métodos fossem padronizados. Os parâmetros analisados foram: o efeito da cobertura de misutra de saliva, ou seja, saliva das diferentes glândulas e suplementos de saliva e açucares (glicose ou galactose) nos meios de crescimento. Após o cultivo das células de Candida albicans 192887 g, essas foram ressuspensas em meio de crescimento para os experimentos de adesão ou em PBS para os experimentos de biofilme. As suspensões fúngicas obtidas foram padronizadas em uma concentração de 107 células/ml. Para avaliação das taxas de crescimento de Candida albicans crescidas em meio suplementado com glicose e galactose, foram preparadas suspensões celulares em YNB contendo 100 mM de glicose ou 500 mM de galactose. Cada suspensão foi incubada em orifícios de microplacas a 37 °C "overnight". A densidade óptica de cada orifício foi medida a 520 nm em intervalos de 2 horas para obter curvas de crescimento. O efeito da película de saliva foi avaliado por meio da cobertura do substrato com saliva por 4 horas a 37 °C e por exposição dos biofilmes fúngicos ao meio de crescimento suplementado com saliva. Diante dos resultados obtidos, foi observado que todos os biofilmes desenvolveram-se progressivamente até o terceiro e quarto dia, e então, alcançaram um platô independente das condições de crescimento. Esse padrão de crescimento implica que as células do biofilme de Candida maduro atingem um estado estável. Em relação aos açucares estudados, as células fúngicas crescidas em galactose exibiram menor grau de adesão e formação de biofilme, comparadas àquelas crescidas em glicose, possivelmente, porque as células de Candida cresceram continuamente em altas taxas quando incubadas em glicose, o que não aconteceu com as células crescidas em galactose. Considerando a película de mistura de saliva, nenhuma diferença significante na adesão foi notada entre as superfícies cobertas ou não por saliva, independente da natureza do açúcar. Similarmente, as células crescidas em meio YNB suplementado ou não com saliva, demonstraram níveis de adesão comparáveis. Em função dos resultados obtidos nesse estudo, os autores concluíram que os fatores ambientais que operam intraoralmente, tais como a dieta de açúcares e saliva, podem modificar a adesão

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

fúngica e formação de biofilme em vários graus. Com relação aos testes utilizados para quantificação dos biofilmes, a medida de CFU correlacionou bem com as leituras de XTT e ATP, sugerindo que as células fúngicas envolvidas na matriz do biofilme são metabolicamente ativas. Conseqüentemente, os autores propuseram que qualquer um dos três métodos avaliados pode ser utilizado para quantificação da massa de biofilme de *Candida*, embora o XTT tenha sido o mais simples.

Em 2003, Nakabayashi, Iwasaki41 propuseram o desenvolvimento de novos materiais biologicamente compatíveis (biocompatíveis), os quais teriam várias funções aplicáveis em vários campos da tecnologia médica e biológica. O primeiro dele é o MPC, 2-metacriloiloxietil fosforilcolina por proporcionar superfícies não-trombogênicas desejáveis para órgãos artificiais. Os autores objetivaram preparar uma superfície não-trombogênica que mimetizasse os vasos sanguíneos. A princípio, para preparar polímeros que tivessem afinidade com fosfolipídeos, que pudessem reter sangue em seu interior, foi desenvolvido uma membrana biomimética com superfícies do copolímero MPC, com características de moléculas de fosfolipídeos. A característica desejável para um material biocompatível é que ele deve estimular o sistema biológico, não desnaturar peptídeos, prevenir acúmulo de peptídeos, não desencadear efeitos adversos nas células, não induzir coagulação sanguínea, entre outros. O fosfatidilcolina é o principal componente da membrana celular. A colina é polimerizável, não sendo, portanto, tão difícil preparar copolímeros do MPC, os quais sintetizados com metilmetacrilato mostraram boa compatibilidade sanguínea. Nakabayashi et al. apresentaram uma série de testes de biocompatibilidade sanguínea, in vitro, exvivo e in vivo (com coelhos) sem nenhum sistema anticoagulação. O teste in vitro foi realizado por meio de micro-colunas revestidas com esferas de PMMA revestidas com PMBs (copolímero metacrilato MPC-butil). O sangue passou pela coluna sem sistema de anticoagulação, durante 30 minutos. Não foi identificado, por meio de microscopia eletrônica de varredura, nenhum elemento sanguíneo na superfície recoberto por fosfolipídeo, concluindo que a superfície recoberta não causou nenhum efeito adverso no sangue e que 10 e 30% do copolímero do MPC

tem uma excelente compatibilidade com sangue. A adsorção de plaquetas e sua ativação foi completamente inibida no copolímero MPC, quando suas unidades foram maiores que 10%. O teste ex-vivo foi realizado por meio de mini módulos de hemodiálise e testes de compatibilidade sanguínea foram realizados com ausência de heparina em coelhos, por 2 horas. Foi verificado que a compatibilidade do sangue com a superfície modificada com MPC foi excelente. Ela suprimiu a adsorção de proteínas do plasma e a adesão de plaquetas assim como sua ativação. Esses resultados sugeriram que o processo livre da irritação da proteína é possível pela aplicação de polímeros fosfolipídicos. O teste in vivo foi realizado por meio da confecção de um tecido de poliéster poroso recoberto por uma solução, mistura de segmentos de poliuretano e poli(MPC-co-2etilexilmetacrilato) para produzir tubos reforçados por fibras, enxerto vascular de pequeno diâmetro não-trombogênico. Foi verificado que a interação do biomaterial com superfície polimérica fosfolipídica com o sangue é mais promissor dentre os materiais não-trombogênicos. Os autores sugeriram que as superfícies dos copolímeros MPC têm uma boa afinidade com fosfolipídios, suprimindo a adsorção de proteínas quando elas entram em contato com o sangue. Os autores especulam sobre o mecanismo de compatibilidade, sugerindo que quando o sangue entra em contato com a superfície do MPC, os fosfolipídios do sangue são adsorvidos e acumulam-se na superfície e se rearranjam formando uma membrana biomimética. A seguir, as proteínas do plasma entram em contato com a membrana biomimética, mas a membrana inibe sua adsorção, impedindo o início da coagulação sanguínea. Então, as células do sangue podem compreender que a membrana biomimética rearranjada pode ser o epitélio do vaso natural e células do sangue fluem naturalmente. Os autores concluem a partir desse estudo que o MPC é um bom monômero para produzir uma variedade de aparelhos médicos, e os copolímeros podem suprimir a adsorção de proteínas e prevenir sua mudança conformacional em ambos, na superfície e na solução.

A fim de avaliar a contribuição do biofilme de *Candida* na etiologia da estomatite protética, Ramage et al.59 2004, avaliaram, por meio de microscopia

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

eletrônica de varredura (MEV), amostras cilíndricas removidas das próteses de dois pacientes com estomatite protética. Além disso, esses autores também estudaram a cinética de crescimento de biofilme in vitro de Candida albicans, por meio do ensaio XTT. Para isso, após a padronização da suspensão fúngica, a partir de alguns isolados clínicos coletados de dois pacientes com estomatite protética, os biofilmes foram formados em placas de 96 orifícios e incubados durante os períodos: 2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas à 37 °C. A susceptibilidade dos biofilmes ao fluconazol e à anfotericina B e o pré-condicionamento das placas com soro e saliva também foram aspectos abordados neste estudo. Os resultados obtidos por meio da MEV evidenciaram a presença do biofilme de Candida nas amostras das próteses, caracterizado por uma rede intricada de lêvedos e hifas profundamente inseridos nas imperfeições e fissuras dos biomateriais, assim como em sua superfície. O XTT demonstrou que os biofilmes in vitro de Candida albicans isolados de pacientes com estomatite protética foram muito ativos metabolicamente nas primeiras 8 horas. Entretanto, com o biofilme maduro e sua complexidade aumentada (24 e 48 horas), a atividade metabólica alcançou um platô, mas permaneceu alta, provavelmente, refletindo o número aumentado de células que constituem o biofilme maduro. Com relação à susceptibilidade antifúngica, os biofilmes estudados apresentaram resistência aumentada ao fluconazol e à anfotericina, comparados à Candida albicans em sua forma planctônica. O pré-condicionamento com soro ocasionou aumento significante na aderência de células fúngicas, principalmente nas fases iniciais de formação do biofilme, ao contrário da película de saliva, que apresentou um efeito mínimo na aderência durante a fase inicial e que, a partir de 4 e 24 horas, esse efeito não foi estatisticamente significante. Os autores concluíram que a formação dos biofilmes de Candida em próteses pode auxiliar na sobrevivência das células fúngicas e contribuir para o processo de doença nos pacientes com estomatite protética.

A retenção das próteses totais é alterada por diversos fatores físicos, mecânicos e biológicos. A molhabilidade das superfícies protéticas é um dos fatores que influencia na facilidade com que a saliva fluirá nas superfícies

protéticas. Além disso, a presença fúngica, principalmente, da Candida albicans nas superfícies das bases de próteses está diretamente envolvida na patogênese da estomatite protética. Baseados nessas duas importantes preocupações que envolvem pacientes usuários de próteses, Yildirim et al.79 (2005) investigaram se o tratamento a plasma em resinas acrílicas, aumentaria a aderência de Candida a essas superfícies. Além disso, os autores avaliaram também a durabilidade da modificação a plasma com a cobertura de saliva. Foram confeccionados 102 discos de polimetilmetacrilato com a superfície de um dos lados polida. Os corpos-de-prova foram divididos em três grupos: controle; grupo submetido ao tratamento a plasma com gás oxigênio a 50 W de potência; e grupo submetido ao tratamento a plasma com gás oxigênio a 100 W de potência. Em cada grupo, a medida de ângulo de contato foi realizada antes e após a pré-incubação em saliva. O teste de aderência foi realizado com a Candida albicans ATCC 10321 por 2 horas. As células aderidas foram coradas com coloração de gram e examinadas em microscopia de luz. Além disso, três amostras foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e uma amostra foi submetida à análise de DRIFT. Os resultados demonstraram que o plasma foi um método efeito para aumentar a molhabilidade, mesmo na presença da saliva, entretanto a quantidade de células de Candida albicans aderidas foi significantemente maior em todas as superfícies tratadas comparadas ao controle. Os resultados do DRIFT revelaram aumento na proporção atômica de oxigênio/carbono (O/C) nas superfícies modificadas o que comprova que o material tornou-se mais hidrofílico após os tratamentos a plasma. A MEV apontou aumento da rugosidade nas superfícies com o tratamento a plasma de alta potência (100 W). Portanto, os autores concluíram que o tratamento a plasma com gás oxigênio foi um meio efetivo de aumentar a molhabilidade das superfícies de polimetilmetacrilato, mesmo com a película de saliva. Entretanto, a quantidade de Candida albicans foi maior, conforme as hidrofilicidades das superfícies aumentaram. Diante disso, os autores sugerem que outros parâmetros de plasma e/ou atmosferas que minimizem a aderência microbiana deveriam ser tentados antes de aceitar a modificação a plasma como um método adequado para melhorar a retenção nas próteses totais.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

Apesar das vantagens apresentadas pelos copolímeros à base de fosfobetaína, a exigência de métodos sofisticados para confecção desses polímeros e o alto custo limitam sua ampla aplicação. Assim, no estudo de West et al.77 (2004), copolímeros contendo moléculas de sulfobetaína ou fosfobetaína foram comparados com relação à adesão celular e bacteriana e resistência à adsorção de proteínas. Os copolímeros foram preparados por meio de uma técnica de polimerização de radicais livres, sendo um composto por sulfobetaína (SB1036) e o outro por fosfobetaína (PC1036). Discos de polimetilmetacrilato (PMMA) e vidro, cujas dimensões eram de 13 x 0,5 mm, foram imersos nos copolímeros avaliados, SB1036 ou PC1036, e comparados com grupos controles compostos por discos não recobertos. O teste de adesão bacteriana, por meio do teste de ATP, foi realizado após 4 horas de contaminação com 1 x 10 8 cel/mm de Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus e Pseudomonas aeruginosa. Macrófagos humanos e granulócitos foram utilizados para avaliar a adesão e ativação de células inflamatórias, enquanto, células de fibroblastos 3T3 de ratos foram utilizadas para avaliar a propensão dos materiais para suportarem a adesão de fibroblastos. Os autores também avaliaram a adsorção de proteínas e os ângulos de contato dinâmicos dos materiais. Os resultados obtidos demonstraram que as amostras de vidro e PMMA recobertas com PC1036 apresentaram menores valores de adesão bacteriana, enquanto as amostras com SB1036 apresentaram valores similares às amostras controles. Em todos os outros testes de adesão celular foram encontrados menores valores nos substratos recobertos com PC1036, comparados aos substratos com SB1036 ou aos controles. Não houve evidência de toxicidade para nenhum dos materiais avaliados. Os resultados de adesão protéica revelaram que a adsorção de proteínas variou de acordo com os diferentes substratos. Os resultados de ângulos de contato indicaram que, inicialmente, a cobertura SB1036 apresenta-se mais hidrofílica, entretanto, ocorre um rearranjo no polímero PC que torna o polímero PC1036, posteriormente, mais hidrofílico. Foi observado ainda nesse estudo que existe uma diferença clara na adesão das diferentes bactérias aos materiais recobertos pela sulfobetaína, o que

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

pode ser consequência das diferentes cargas de superfície dos micro-organismos ou de sua propensão a se aderir às proteínas adsorvidas. Embora a fosfobetaína e a sulfobetaína sejam ambas componentes zwiteriônicos, as diferenças por elas apresentadas podem ser consequência de suas capacidades de se aderirem à água. O ângulo de contato inicialmente alto do PC1036 ocorre porque os polímeros PC apresentam um componente lauril, que é hidrofóbico e expresso na superfície em contato com o ar. Uma vez molhada a superfície, um baixo ângulo de contato é obtido. Por outro lado, os polímeros de sulfobetaína apresentam menores ângulos de contato iniciais, devido à expressão reduzida do grupo lauril na interface com o ar, mas torna-se menos hidratada após o molhamento, resultando em maiores ângulos de contato. Outra explicação para os diferentes comportamentos dos polímeros é que a fosfobetaína tem um grupo amônia quartenária terminal, enquanto o grupo sulfato é o grupo terminal nas sulfobetaínas. A mobilidade do grupo amônia pode aumentar a capacidade da fosfobetaína de manter a água ao redor do grupo fosfato aniônico. Os diferentes potenciais elétricos de superfícies desses componentes zwiteriônicos também podem contribuir na variação da adesão celular e protéica, por meio da modificação de interações eletrostáticas entre as moléculas biológicas e as superfícies. Diante dos resultados encontrados, os autores concluíram que as coberturas de fosfobetaína e a sulfobetaína demonstraram resultados positivos comparados aos substratos controles, sendo a fosfobetaína claramente superior à sulfobetaína.

Os níveis de aderência inicial de S. aureus, S. mutans, P. aeruginosa e C. albicans sobre superfícies de polietileno recobertas com o polímero MPC (2-metacriloiloxietil fosforilcolina) foram avaliados por Hirota et al.23em 2005. Para isso, amostras experimentais esféricas de polietileno (13,5 mm x 0,2 mm) foram recobertas com MPC em etanol, e secas à vácuo, a 70 °C, por 4 horas. Polietileno sem nenhuma cobertura polimérica foi utilizado como grupo controle. Além desses grupos, amostras de tetrafluoroetileno-etileno também foram confeccionadas e usadas como substrato hidrofóbico. Para o teste de adesão microbiana, os inóculos de cada uma das espécies, padronizados a uma

concentração final de 1 x 109 células/ml, foram adicionados sobre as amostras, em orifícios de uma placa de cultura, e mantidos a 37 °C por 1 hora para aderência dos micro-organismos. Após esse período de adesão, as amostras foram lavadas em PBS para remoção das células não aderentes. Por meio da microscopia de fluorescência, as células aderidas foram contadas em 10 campos selecionados ao acaso. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) também foi utilizada para analisar os micro-organismos aderidos. Além disso, amostras de cada um dos grupos foram fixadas na superfície de uma prótese superior por 1 ou 24 horas e a quantidade de unidades formadoras de colônias foi determinada. Os resultados deste estudo demonstraram que, para todos os micro-organismos estudados, o número de células aderidas às amostras recobertas com MPC significantemente menor comparado ao número de células aderidas às amostras sem cobertura de MPC ou às amostras hidrofóbicas. A MEV confirmou esse resultado, demonstrando a presença de poucos micro-organismos nas amostras recobertas com o MPC. A análise das amostras fixadas na prótese também revelou que a superfície recoberta com MPC foi significantemente menos colonizada por micro-organismos, quando comparada com as superfícies não recobertas com MPC ou com as superfícies hidrofóbicas. Os autores atribuíram os resultados encontrados à "superhidrofilicidade" das superfícies recobertas com MPC. Portanto, os resultados deste estudo sugerem que a aplicação de uma cobertura de MPC nas superfícies pode ser um instrumento promissor para prevenção da retenção microbiana aos aparelhos biomédicos e outras superfícies.

Os autores Sesma et al.66, em 2005, avaliaram clinicamente a efetividade de um "glaze" aplicado na superfície interna da prótese com relação à colonização de bactérias do biofilme dental. Foram selecionados 10 voluntários parcialmente desdentados (6 homens e 4 mulheres) na faixa etária entre 35 e 65 anos. Os participantes foram instruídos a utilizar a prótese durante o dia e a noite, a fim de garantir a contínua formação de biofilme. As próteses removíveis parciais temporárias maxilares foram confeccionadas com resina acrílica autopolimerizável Clássico, com cobertura total do palato e grampos para

retenção. Não foi realizado nenhum tipo de polimento interno. Uma camada de "glaze" fotopolimerizável (Palaseal) foi aplicada do lado direito da superfície interna da prótese com um pincel e fotopolimerizado por 3 minutos no aparelho UNIXS. No lado esquerdo nenhum tipo de "glaze" foi aplicado. Em seguida, as próteses foram ajustadas e instaladas. Os voluntários foram instruídos a seguir um protocolo padrão de higienização, utilizando uma pasta de baixa abrasão e uma escova macia, após todas as refeições, três vezes ao dia. Para os participantes foi ministrada uma demonstração e treinamento sobre a higienização. Segundo os autores, como o protocolo de limpeza, o acúmulo de biofilme e a colaboração dos pacientes são variáveis, as micrografías foram comparadas somente dentro do mesmo indivíduo. Após o período de 1 e 3 meses foi removido um fragmento triangular de 3 mm da região palatal posterior utilizando uma ponta diamantada estéril. Os fragmentos foram fixados em solução de glutaraldeído a 2% e PBS, ficando armazenados por 48 horas, a 4 °C. Após esse período, os fragmentos foram lavados em PBS e sequencialmente desidratados em uma série ascendente de etanol e completamente secos em dióxido de carbono. Os fragmentos receberam uma camada de ouro (15 a 20 nm), sendo examinados em sua região central, em microscópio eletrônico Stereoscan LEO 430 com aumentos de x500, x5000, x10000 e analisados quanto à formação ou não de biofilme bacteriano nas áreas recobertas e não recobertas pelo "glaze". Após 1 mês as características do biofilme formado de ambos os lados diferiram entre todos os pacientes. A superfície da resina que recebeu o "glaze" apresentou-se recoberta por uma fina camada de biofilme bacteriano, enquanto a que não recebeu nenhum tipo de tratamento mostrou-se recoberta por uma densa formação de biofilme rica em micro-organismos. Após 3 meses foi observado que as superfícies "glazeadas" apresentavam imperfeições em algumas regiões, aparentemente fissuras ou rachaduras. Aparência semelhante, neste período, foi observada em todos os fragmentos que receberam uma camada de Palaseal. Essas fissuras serviram como micro-nichos favorecendo a retenção de biofilme bacteriano. As amostras que não receberam o "glaze" apresentaram uma biofilme maduro. Os autores tiveram como principal objetivo avaliar nesse estudo o efeito real das superfícies tratadas

com "glaze" sobre a formação do biofilme bacteriano, pois ainda, segundo os autores, avaliações in vivo diferem das in vitro no que diz respeito à colonização de micro-organismos e a adesão sobre a superfície de resina. Por esse motivo, a análise de microscopia (SEM) foi selecionada. As análises realizadas observando as SEM demonstraram diferenças, tanto na espessura quanto na composição da biofilme bacteriano, no arranjo dos micro-organismos e na aparência da superfície, comparando os fragmentos nos períodos avaliados. Após 1 mês da instalação, a biofilme depositada sobre o lado "não-glazeado" apresentou-se como uma fina camada em um arranjo compacto contendo coccus, bacilus e filamentos de bactérias, características de biofilme maduro. No lado "glazeado" foi observada uma fina camada com predominância de coccus, indicando colonização recente e sugerindo que embora o "glaze" não tenha impedido o acúmulo de biofilme, ele facilitou sua remoção. Aos 3 meses de utilização das próteses, as imagens de SEM revelaram áreas do "glaze" trincadas ou parcialmente destacadas. Segundo Taylor (autor consultado), um pequeno aumento na rugosidade superficial tem um efeito significativo na aderência microbiana, porque atua como nichos microscópicos na superfície da resina e protege os micro-organismos da ação de remoção. Segundo os autores, as trincas podem ter ocorrido devido à rigidez que o "glaze" adquiriu após a polimerização. Ainda segundo os autores, as áreas onde o "glaze" foi destacado podem ter sido afetadas pela espessura, rigidez e brilho da camada, os quais foram perdidos após a exposição ao ambiente oral e aos procedimentos de higiene. Esses resultados não coincidiram com resultados de estudos in vitro. A aparência das "superfícies glazeadas", após 3 meses, não foi a mesma comparada com o momento da instalação da prótese, apresentando perda parcial da cobertura do "glaze". Embora os resultados tenham demonstrado que a cobertura da porção interna da prótese com o "glaze" não tenha prevenido a colonização bacteriana, os autores concluíram que a sua utilização favoreceu a remoção do biofilme enquanto permaneceu intacto sobre a superfície (1 mês).

Em 2006, Moura et al.40 avaliaram a influência da saliva humana na aderência de espécies de Candida em superfícies de resina acrílica polimerizadas termicamente ou por meio de micro-ondas, e verificaram se essa aderência foi influenciada pela rugosidade superficial e energia livre de superfície. Foram confeccionados um total de 256 corpos-de-prova (2.5 x 1.2 x 0.2 cm) de resina termopolimerizável (Clássico) e polimerizada por meio de micro-ondas (Ondacryl). Após o acabamento realizado com lixas de granulação 320, 400 e 600, o polimento foi realizado utilizando escova e pedra pomes, durante 1 minuto em cada superfície. A rugosidade superficial dos corpos-de-prova obtidos foi analisada utilizando um rugosímetro, e aqueles corpos-de-prova com desvio padrão altos foram descartados. Todos os espécimes foram limpos com ultrassom por 20 minutos, e imersos em água destilada, a 37°C, por 12 horas, para liberação do monômero residual. Após esses procedimentos a rugosidade superficial e o ângulo de contato da superfície dos corpos-de-prova foram mensurados. As leituras de ângulo de contato foram realizadas 3 vezes obtendo-se a média. Após as mensurações, os corpos-de-prova foram colocados em ultrassom por 20 minutos, lavados com água destilada estéril e novamente colocados em ultrassom por mais 20 minutos. Os espécimes foram, então, aleatoriamente divididos em 2 grupos: pré-condicionados com saliva durante 30 minutos e grupo controle sem pré-condicionamento com saliva. A saliva estimulada foi obtida de um único doador, centrifugada a 10.000 g por 5 minutos a 4 °C. O sobrenadante da saliva foi utilizado para o pré-condicionamento de metade dos corpos-de-prova por 30 minutos para a formação da película adquirida. Assepticamente, os corpos-deprova foram transferidos para tubos contendo suspensão (1 a 5 x 106cel/ml) de uma das quatro espécies de Candida avaliadas: C. albicans, ATCC 90028, C. tropicalis ATCC 750, C. dubliniensis CD 36 ou C. glabrata ATCC 2001, onde permaneceram por duas horas a 35 °C. Após esse período os corpos-de-prova foram removidos e gentilmente lavados em PBS, por 75 segundos, e com etanol 80% para fixar o micro-organismo e, então, corados por 1 minuto com cristal violeta e novamente lavados com PBS. A aderência dos micro-organismos foi avaliada pela contagem das colônias utilizando um microscópio óptico (x 400).

De acordo com os resultados encontrados pelos autores, nenhuma diferença significativa na rugosidade superficial entre os materiais foi detectada, assim como a rugosidade parece não interferir na aderência das espécies de *Candida*. Os valores de energia livre de superfície foram significativamente diferentes, sendo que a resina termopolimerizável apresentou os maiores valores. Segundo os resultados obtidos, a presença ou ausência de saliva e as diferentes espécies de Candida influenciaram significativamente a aderência do micro-organismo, mas eles não foram influenciados pelo método de polimerização das resinas. A presença da saliva humana influenciou a contagem das espécies de Candida, resultando em uma diminuição nos valores de aderência para C.albicans e C. tropicalis, aumentando para C. dubliniensis na superfície da resina termopolimerizável. C. glabrata não teve o seu crescimento influenciado pela saliva. Para a resina polimerizada por meio de micro-ondas foi observado crescimento de C. albicans na presença de saliva e nenhum efeito significativo foi verificado para C. dubliniensis nas mesmas condições. Os autores concluíram que o método de polimerização não influenciou os valores de aderência de Candida e que não há correlação entre a energia livre de superfície, a rugosidade superficial e a adesão das espécies de *Candida* avaliadas neste estudo.

Yildirim et al.80, em 2006, avaliaram em seu estudo o tratamento da superfície de resina acrílica com descarga de plasma com o objetivo de alterar a superfície e melhorar a molhabilidade, aumentando a adsorção de mucina MG1 sobre as superfícies. O efeito de diferentes atmosferas de plasma e a intensidade de descarga sobre a molhabilidade e a adsorção de mucina também foram avaliadas no estudo. Para os testes foram obtidas amostras de resina acrílica para base de prótese (Meliodent) utilizando a técnica de termo-compressão. Os discos mensuraram 17 mm de diâmetro e 1 mm de espessura e foram confeccionados a partir de uma matriz metálica. Um dos lados dos espécimes de resina acrílica foi polido, da mesma maneira realizada na prática clínica, onde um dos lados não é polido para simular o tecido oral sob a prótese. Para eliminar as variáveis de rugosidade o lado polido foi refinado utilizando uma máquina de polimento com

lixa de granulação 500 na velocidade de 250 rpm, sob água. As amostras foram armazenadas em água destilada, a 37°C, por 2 dias para eliminação dos monômeros residuais. Antes do processo de descarga elétrica, uma série de procedimentos de limpeza foi realizada para melhorar a superfície. Os espécimes de resina acrílica foram lavados com detergente líquido e enxaguados com água de torneira. As amostras foram limpas em banho de ultrassom com uma solução na proporção de 1:1 álcool e água durante 20 minutos e secas no ar. A seguir, as amostras foram colocadas no interior do reator de plasma e submetidos a uma alta pressão de vácuo (10-3 mmHg) para remover a umidade, o remanescente da solução de álcool e ar existente nas amostras. Para produzir superfícies de resina acrílica variando a hidrofobicidade, os espécimes foram submetidos a diferentes atmosferas de plasma e intensidade de descarga. Para criar superfícies com diferentes propriedades de molhabilidade foram utilizados monômeros hidrofílicos, 2-hidroxietilmetacrilato, (HEMA), gás oxigênio (O2) e monômero hidrofóbico hexametildisiloxano (HMDS). Foram confeccionados no total 140 espécimes, distribuídos em 7 grupos: 1-controle, superfície não modificada; 2tratamento de plama com HEMA a 50 W; 3- tratamento de plasma com HEMA a 100 W; 4-tratamento de plasma com O2 a 50 W; 5- tratamento de plasma com O2 a 100 W; 6- tratamento de plasma com HMDS a 50 W; 7- tratamento de plasma com HMDS a 100 W. Dos 20 espécimes submetidos a cada tratamento, 10 foram utilizados para as mensurações de ângulo de contato e 10 para procedimentos de adsorção de MG1. Com relação ao ângulo de contato foram realizadas três mensurações para cada lado da superfície. Para os procedimentos de adsorção de MG1 foi coletada saliva não-estimulada de um único doador masculino, saudável, dentição completa, sem restauração, com ausência de cárie ou doença periodontal. De acordo com os autores o estudo teve limitações, entre eles os autores relatam a adsorção de proteína MG1 sobre a superfície modificada de PMMA que foi avaliada utilizando um esquema simples de proteína. A saliva é um sistema complexo, uma adsorção competitiva de um sistema multicomponente de difícil análise, ou seja, um tipo de proteína compete com outros tipos para adsorver na mesma superfície. Por isso, segundo os autores, os resultados devem ser confirmados em estudos futuros avaliando a adsorção de MG1 sobre a superfície de PMMA com uma complexa mistura de saliva. Considerando as limitações do estudo, a modificação com plasma alterou a superfície de materiais utilizados para base de prótese e aumentou significativamente a adsorção da proteína mucina de alto peso molecular variando os parâmetros de plasma. A alteração com HEMA é um meio efetivo de aumentar a molhabilidade da superfície e mediar à adsorção de MG1 sobre a superfície de PMMA.

Tari et al.72 (2007) examinaram a rugosidade de superfície e adesão de Candida albicans em materiais reembasadores resilientes sujeitos ao processo de envelhecimento, recobertos ou não com saliva. Cinquenta corpos-de-prova dos materiais Visco Gel, Ufi Gel P e Molloplast B foram preparados, sendo que 10 deles foram utilizados para medida da rugosidade. Entre os 40 corpos-de-prova utilizados para o teste de aderência, 20 foram submetidos ao processo de envelhecimento e 10 deles pré-tratados com saliva. A incubação com saliva estimulada coletada de 4 indivíduos foi realizada por 1 hora à 37 °C, após centrifugação a 5.000 g por 15 minutos. O teste de aderência foi realizado com Candida albicans ATCC 90028 por 3 horas a 37 °C e as células aderidas foram quantificadas microscopicamente após coloração com técnica de Gram. Os resultados obtidos demonstraram que o processo de envelhecimento promoveu aumento da rugosidade superficial dos materiais reembasadores resilientes estudados, e conseqüentemente, a adesão de Candida albicans. A saliva não afetou significantemente a aderência fúngica aos materiais, exceto para as amostras submetidas ao processo de envelhecimento, nas quais a saliva aumentou a aderência fúngica. Os autores concluíram que o envelhecimento dos materiais causa aumento da rugosidade e da adesão de Candida albicans o que é agravado pela presença da saliva.

Considerando os dados limitados sobre os fatores que influenciam na coexistência de múltiplas espécies de *Candida*, Thein et al.72 (2007) examinaram as interações de biofilme de duas espécies de *Candida*, *Candida albicans* e *Candida* krusei, nas superfícies acrílicas de prótese. Para isso dois isolados de Candida albicans (Ca) e dois de Candida krusei (Ck), com alta (Cah, Ckh) e baixa (Cal, Ckl) capacidades de formação de biofilmes, foram utilizados. Os biofilmes foram desenvolvidos em superfícies acrílicas aerobicamente a 37 °C em meio YNB e o crescimento foi quantificado por unidades formadoras de colônias (UFC). Os autores avaliaram: 1) os perfis de população dos biofilmes contendo cada par de espécies de Candida, de um total de quatro pares de combinação, depois de 12 horas; 2) o efeito de uma concentração constante de Cah (107 células/ml) nas concentrações variantes de Ckh (103 - 107 células/ml) no desenvolvimento do biofilme de duas espécies; 3) o efeito da saliva no desenvolvimento do biofilme de duas espécies. A mistura de saliva não estimulada utilizada nesse estudo foi coletada de cinco doadores saudáveis e centrifugada a 10.000g por 15 minutos a 4 °C. Além disso, a saliva foi filtrada com uma membrana de 0,22 micrômetros. Os resultados demonstraram que os biofilmes de dupla espécies exibiram menor população de células depois de 9 ou 12 horas comparados aos biofilmes de A Candida albicans (10⁷ células/ml) co-cultivada com monoespécie. concentrações iniciais variantes de Candida krusei foi inibida em altas concentrações da C. krusei (106 - 107 células/ml), e a população dessa última, de maneira geral, foi menor na presença da Candida albicans, o que indica um efeito de antagonismo mútuo de Candida albicans e Candida krusei nos modelos de biofilme de duplas espécies. Todos os biofilmes de monoespécie da Candida krusei foram significantemente diminuídos pela presença da cobertura de saliva sobre o substrato acrílico ou pela incorporação de saliva no meio de incubação. Os biofilmes de dupla espécie de Candida krusei e os biofilmes de Candida albicans, mono ou dupla espécie, não foram afetados pela saliva. Os resultados indicam que características quantitativas e qualitativas de uma espécie de Candida modificam a fisiologia de outras espécies fúngicas, e interações competitivas dessas espécies são importantes na co-habitação em biofilme. Além disso, a saliva humana pode modular esse processo dependendo da natureza e número de espécies.

A rugosidade de superfície e a aderência de *Candida albicans* em quatro resinas acrílicas para base de prótese e cinco reembasadores resilientes com diferentes polimentos de superfícies foram estudados por Nevzatoglu et al.42 (2007). As amostras, cujas dimensões eram de 10 x 10 x 2 mm, foram processadas contra o vidro, o gesso ou polidas com pontas carbide de tungstênio. Após a realização dos corpos-de-prova, as medidas de rugosidade foram feitas, seguidas pela contaminação com Candida albicans ATCC 2091 a uma concentração de 106 cél/ml. Os resultados obtidos demonstraram que os tipos de polimento afetaram os valores de rugosidade de superfície dos materiais testados. Os materiais processados contra as superfícies de vidro apresentaram menores valores de rugosidades de superfície, comparados aqueles processados contra o gesso e com pontas específicas. Além disso, eles também apresentaram menor adesão de Candida albicans, mas a diferença encontrada não foi estatisticamente significante. As resinas acrílicas para base de prótese exibiram menores valores de rugosidade superficial comparadas aos reembasadores resilientes, independente dos métodos de polimerização. O tipo de polimento de superfície não influenciou a adesão de Candida albicans, mas, considerando os tipos de materiais, a adesão fúngica foi menor nas resinas acrílicas para base de próteses comparadas aos reembasadores resilientes. Embora os materiais auto e termopolimerizáveis não apresentarem diferenças significantes nas rugosidades superficiais, os materiais termopolimerizáveis exibiram menor adesão de Candida albicans. Diante dos resultados, os autores concluíram que instruções de higiene oral e programas de manutenção para pacientes com próteses reembasadas devem ser cuidadosamente realizadas a fim de evitar a estomatite protética, considerando que a adesão de Candida albicans nos materiais reembasadores foi maior do que nas resinas acrílicas para base de prótese.

A influência da rugosidade, energia livre de superfície, saliva e bactéria na adesão de espécies de *Candida* a materiais protéticos foi estudada por Pereira-Cenci et al.54 (2007). Para isso, 320 corpos-de-prova de duas resinas acrílicas termopolimerizáveis e dois materiais reembasadores de prótese (Kooliner e

CoeSoft) foram confeccionados nas dimensões de 2,5 x 1,2 x 0,2 cm. Após a obtenção dos valores de rugosidade e energia livre de superfície, os corpos de prova foram divididos aleatoriamente entre as diferentes condições experimentais (n=10): presença ou ausência de pré-cobertura de saliva por 30 minutos; précolonização bacteriana (Streptococcus mutans e Actinomyces naeslundii) por 30 minutos ou ausência de bactéria; e incubação com Candida albicans ou Candida glabrata, ambas durante duas horas a uma concentração de 5 x 106 células/ml. A adesão fúngica foi determinada por contagem das células aderidas, por meio da microscopia de luz, após coloração com violeta cristal. Os resultados demonstraram que a rugosidade de superfície influenciou positivamente a adesão, ao contrário da saliva, que diminuiu a colonização fúngica para todos os materiais. Os autores encontraram que a pré-colonização de bactérias também influenciou a adesão fúngica, entretanto, a energia livre de superfície não afetou diretamente a adesão das espécies de Candida. Apesar da grande variação na adesão fúngica, na maioria das condições experimentais e materiais avaliados, a Candida glabrata apresentou-se em maiores quantidades comparada à Candida albicans, o que pode indicar maior virulência. Portanto, os autores concluíram que a adesão de Candida é fortemente afetada pela rugosidade, saliva e bactéria, mas não pela energia livre de superfície.

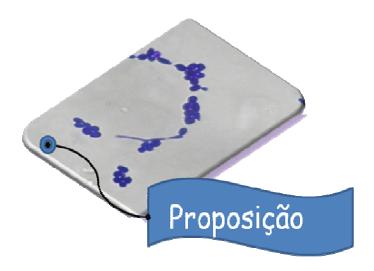
Recentemente, Dagistan et al.16 (2008) investigaram 70 pacientes usuários de próteses totais, com relação à presença da estomatite induzida por prótese. Os exames dos pacientes incluíam: a coleta de informações pessoais, como idade, sexo, hábitos de higiene e uso das próteses; exame clínico e classificação do eritema presente ou não na cavidade bucal; e ainda, exame micológico em que amostras obtidas da mucosa do palato e da superfície das próteses eram cultivadas e identificadas. De acordo com os resultados obtidos, 70% dos casos apresentaram estomatite induzida por prótese e 68% das culturas microbiológicas apresentaram resultados positivos. A *Candida albicans* foi a espécie fúngica mais freqüentemente isolada das culturas originadas da mucosa do palato e da superfície da prótese, com taxas de 68,8% e 60,4%, respectivamente. A segunda

espécie mais frequentemente isolada foi a *Candida glabrata*, com taxas de 35,4% isolada do palato e 37,7% das superfícies protéticas. Ainda com relação às culturas realizadas, o crescimento fúngico foi mais pronunciado naquelas originadas das superfícies das próteses em contato com a mucosa, comparadas àquelas originadas da mucosa do palato. Diante dos resultados obtidos, os autores concluíram que as infecções por *Candida* spp. não são fatores predisponentes na ocorrência da estomatite induzida por prótese, mas desempenha papel importante, assim como alguns outros fatores, especialmente aqueles relacionados com as próteses.

A aderência de Candida albicans às superfícies de polimetilmetacrilato (PMMA) reforçado com duas fibras diferentes (Sticknet e Eversticknet) e o efeito da película de saliva nesse processo foi avaliado por Karaagaclioglu et al.28 (2008). Para isso, foram confeccionadas 20 amostras de resina acrílica termopolimerizável com dimensões de 10 x 10 x 2 mm, sendo que 10 amostras foram reforçadas com fibras Sticknet e as outras 10 foram reforçadas com fibras Eversticknet. Após a confecção dessas amostras, elas foram mantidas em água destilada estéril e nenhum polimento foi feito no lado em que seria realizada a avaliação da aderência fúngica. A fim de estudar o efeito da película de saliva, metade das amostras (5 Sticknet e 5 Eversticknet) foram tratadas com saliva, previamente ao teste de aderência, e as demais foram pré-tratadas com PBS (solução salina-fosfato tamponada), durante 1 hora a 37 °C. Para isso, a saliva utilizada foi coletada de um único doador, de forma não estimulada e centrifugada a 20.000g por 30 minutos. Após esse período de pré-tratamento, a saliva ou o PBS foram removidos e as amostras foram colocadas em uma suspensão fúngica de Candida albicans por 1 hora. Após o período de adesão, as células não aderidas foram removidas por meio da lavagem com PBS estéril e a fixação foi realizada com metanol. A contagem das células fúngicas foi realizada 70 campos de cada amostra, através da microscopia eletrônica de varredura em um aumento de 500x. Os autores não observaram nenhuma diferença significante entre a aderência de Candida albicans nas superfícies do PMMA reforçado com Sticknet ou Eversticknet pré-tratadas com PBS. Mas, na presença do pré-tratamento com a saliva foi observada redução significante na aderência de *Candida albicans* para o grupo reforçado com a fibra Eversticknet. Portanto, o uso das fibras Sticknet e Eversticknet como material de reforço para o PMMA não apresentou nenhum efeito na topografia de superfície, considerando a mesma adesão de *Candida albicans* apresentada, mas a presença da película de saliva reduziu a adesão da espécie fúngica estudada.

Pereira-Cenci et al.55, em 2008, discutiram criticamente, por meio de uma revisão de literatura, vários fatores importantes que controlam a adesão de espécies de Candida aos materiais de base de prótese e reembasadores. Os principais fatores abordados foram: as propriedades de superfície, como rugosidade e energia livre de superfície; superfície e características dos materiais reembasadores; o papel das propriedades salivares; o aparecimento de outras espécies de Candida e as interações de Candida com bactérias. Os autores verificaram que, embora exista consenso em relação à importância desses fatores, resultados contraditórios têm sido encontrados. Isso se deve, parcialmente, às variações nos protocolos experimentais e a fatores que ainda não foram minuciosamente estudados. A energia livre de superfície e a rugosidade de superfície controlam a aderência inicial, mas as alterações relacionadas a elas, a longo prazo, não foram estudadas. Além disso, não existem estudos in vivo demonstrando se o tipo de substrato é um fator crítico para o acúmulo de biofilme durante longos períodos no ambiente oral. Em relação à saliva, sua contribuição não é clara devido a fatores como variações na coleta e manipulação. Estudos iniciais encontraram que as bactérias desempenham papel crucial para o sucesso do estabelecimento da Candida em biofilmes, mas o significado clínico dessa observação necessita ainda de confirmação. Diante disso, os autores concluíram que existe a necessidade de padronizar os procedimentos experimentais, correlacionando os resultados obtidos de estudos laboratoriais com aqueles observados em estudos in vivo. Além disso, consideraram importante investigar detalhadamente os fatores que modulam a adesão inicial e subsequente colonização dos materiais para base de prótese e da mucosa oral dos pacientes sujeitos às infecções com *Candida*. Informações sobre como esses fatores podem ser controlados são necessários e isso pode colaborar para prevenção da doença. O impacto social dessa informação é significante, considerando a magnitude do problema mundial da candidose.

Em 2008, Silva et. al.68 avaliaram se a suplementação com glicose na formulação do XTT poderia melhorar a confiabilidade e reprodutibilidade do teste por fornecer nutriente suficiente para que as células de Candida atravessem as diferentes camadas do biofilme. Para o estudo foi utilizada Candida albicans ATCC 90028, cultivada aerobicamente a 37 °C por 18 horas em Agar dextrose Sabouraud, sendo em seguida uma alçada removida e semeada em YNB suplementado com 50 mM de glicose, permanecendo nesse meio por 18 horas, até atingir a última fase exponencial de crescimento, sendo então colhidas e lavadas duas vezes em PBS (pH 7.2) e ressuspendida em YNB suplementado com glicose 100 mM. Para o experimento foi utilizada a suspensão de 107cel/ml cuja densidade óptica foi ajustada pela escala de McFarland utilizando o espectrofotômetro Beckman Du530UV, sendo verificado que a concentração celular é ótima para o desenvolvimento do biofilme. Uma alíquota de 100µl de suspensão celular padrão da cepa 107cel/ml foi transferida para uma placa de 96 orifícios estéril e incubada por 90 minutos, a 37 °C, em um shaker orbital a 75 rpm. Após a fase de adesão, a suspensão celular foi gentilmente aspirada e cada orifício lavado duas vezes com PBS para remover alguma célula planctônica, tomando o cuidado de não desorganizar as células aderidas. Dando seqüência ao crescimento do biofilme foi acrescentado em cada orifício 200 µl de YNB suplementado com glicose 100mM e as placas foram incubadas por 24, 48 e 72 horas nas mesmas condições anteriores. A cada 24 horas de incubação, o meio foi aspirado e o biofilme lavado duas vezes com PBS e acrescentado 200µl de meio fresco. Os tempos de formação de biofilme foi quantificado utilizando ensaio do XTT que foi repetido 6 vezes em duas ocasiões distintas. O XTT foi dissolvido a uma concentração final de 1mg/ml, sendo filtrado e estocado a -70 °C até ser utilizado. A solução de menadiona foi preparada, imediatamente, no momento do experimento, sendo que a proporção da solução de XTT para menadiona foi o volume de 20:1. O biofilme foi lavado com 200 µl de PBS para remover células não aderidas, a seguir foi colocado em cada orifício da placa: 158µL de PBS com e sem glicose nas concentrações de 200, 100 e 50 mM; 40µl de XTT e 2µl de menadiona. A placa foi envolvida em papel alumínio e incubada no escuro a 37 °C por 90 minutos, 3 h ou 4 horas. Logo após esse período uma alíquota de 100µl foi transferida para uma nova placa e a alteração colorimétrica foi mensurada em um espectrofotômetro com filtro de 492 nm. Em relação aos resultados foi observado que a incubação para o ensaio de XTT por 180 minutos (3 horas) demonstrou valores mais coerentes para o prosseguimento da análise. No período selecionado, o biofilme incubado para cada concentração de glicose demonstrou diferença estatisticamente significante. A adição de glicose foi responsável pela atividade oxidativa, indicando interferência na atividade metabólica e resultando em um menor coeficiente de variação. A adição de glicose aumentou a detecção dos produtos reduzidos do XTT, os formazanos, comparado ao controle sem nenhuma adição. Em suma, o teste XTT suplementado com 200 mM de glicose e o tempo de incubação de 180 minutos foram considerados ideais para se avaliar a reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados.



3. Proposição

O objetivo do estudo foi modificar a superfície de uma resina acrílica para base de prótese com a aplicação de 4 vernizes experimentais (M, P, E e T), em três concentrações (25, 30 e 35%), para verificarmos a prevenção ou diminuição da adesão de *Candida albicans*. Os vernizes apresentaram em suas formulações monômeros hidrofílicos ou zwiteriônicos.

4. Material e Método

4.1. Confecção dos corpos-de-prova

Para a obtenção dos corpos-de-prova (n=936) foi utilizada a resina para base de prótese incolor Vipi Wave (VIPI Indústria, Comércio, Exportação e Importação de Produtos Odontológicos Ltda., Pirassununga, SP, Brasil) específica para micro-ondas (Figura 1). O processo de polimerização consistiu de 20 minutos a 20% da potência (nível 2), adicionados de 5 minutos a 90% da potência (nível 9) do aparelho de micro-ondas (Brastemp 27 litros – Brastemp da Amazônia SA, Manaus, AM, Brasil). Os corpos-de-prova foram confeccionados utilizando-se matrizes metálicas com 10 cavidades vazadas, cada uma dessas medindo 13,8 mm de diâmetro e 2 mm de espessura (Figura 2). A inclusão dos corpos-de-prova em mufla (Mufla Vipi-STG - VIPI Indústria, Comércio, Exportação e Importação de Produtos Odontológicos Ltda., Pirassununga, SP, Brasil) foi realizada por meio de dois métodos diferentes, a fim de que metade das amostras obtidas simulasse a superfície polida das próteses (lisa), e a outra metade simulasse a superfície interna das mesmas (rugosa). Esses dois métodos de inclusão estão descritos a seguir.





FIGURA 1 – Resina Vipi Wave.

FIGURA 2 – Matriz metálica.

✓ Corpos-de-prova com superfícies lisas (inclusão entre vidros)

Para confecção de corpos-de-prova que simulassem a superfície polida das próteses (lisa), foi realizada a inclusão da resina acrílica entre duas placas de vidro. Inicialmente, a parte inferior da mufla foi isolada e preenchida com gesso

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

sobre o qual foi, então, posicionada uma placa de vidro de forma e tamanho compatíveis com as dimensões da matriz metálica (Figura 3).

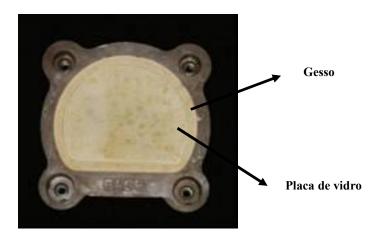


FIGURA 3 – Parte inferior da mufla preenchida com gesso sobre o qual está posicionada a placa de vidro.

Após a presa do gesso, a matriz foi fixada com três gotas de cola Super Bonder (Loctite, Henkel Ltda., Itapevi, São Paulo, Brasil) sobre a placa de vidro. A seguir, silicone foi manipulado e posicionado ao redor da matriz, para facilitar a remoção da mesma na fase de desinclusão (Figura 4A). Outra placa de vidro foi, então, fixada sobre a matriz com Super Bonder (Figura 4B), e a contra-mufla posicionada e preenchida com gesso de maneira convencional.

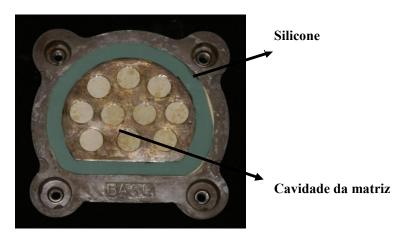


FIGURA 4A

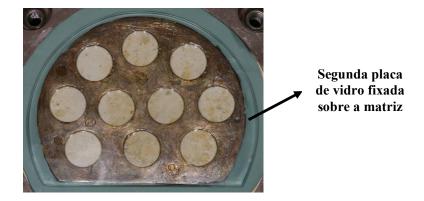


FIGURA 4B

FIGURAS 4A e B - Parte inferior da mufla preenchida com gesso sobre o qual está posicionada a placa de vidro e a matriz metálica com silicone ao redor (A) e visão aproximada da placa de vidro fixada sobre a matriz metálica para posterior colocação da contra-mufla e inclusão final (B).

Após a presa do gesso, a mufla foi aberta e o isolante para resina acrílica (Vipi Film - VIPI Indústria, Comércio, Exportação e Importação de Produtos Odontológicos Ltda., Pirassununga, SP, Brasil) foi aplicado na matriz. A seguir, a resina para micro-ondas foi manipulada, de acordo com as instruções do fabricante, na proporção de 14 g de pó para 6,5 ml de líquido, para cada corpo-deprova. Após o período de incorporação e homogeneização, a resina na fase plástica foi inserida nos orifícios da matriz. Em seguida, a mufla foi fechada, aguardando-se um período de 15 minutos para o início da polimerização. Realizado o ciclo de polimerização aguardou-se o resfriamento da mufla, à temperatura ambiente, sendo então abertos, os corpos-de-prova retirados, e os excessos laterais removidos com o auxílio de uma ponta estéril (Maxi-Cut; Lesfils de August Malleifer SA, Ballaigues, Suíça) (Figura 5)

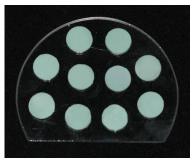
pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!



FIGURA 5 - Corpos-de-prova obtidos com superfícies lisas

✓ <u>Corpos-de-prova com superfícies rugosas (inclusão em contato com gesso)</u>

Para a confecção dos corpos-de-prova que simulassem a superfície interna das próteses (rugosa), a matriz foi isolada com vaselina e posicionada sobre uma placa de vidro. Silicone de condensação (Zetaplus/Indurent - Zhermack, Badia Polesine, Rovigo, Itália) foi manipulado, de acordo com as instruções do fabricante, e inserido nas cavidades internas da matriz. A seguir, outra placa de vidro foi pressionada, manualmente, sobre o silicone e mantida durante a polimerização do material. Após a remoção cuidadosa do material das cavidades da matriz metálica, obtendo-se assim os padrões de silicone, esses foram fixados com Super Bonder (Loctite, Henkel Ltda., Itapevi, São Paulo, Brasil) sobre uma placa de vidro (Figura 6A). Silicone de condensação também foi posicionado ao redor da placa de vidro para permitir que essa fosse retirada após a presa do gesso (Figura 6B).





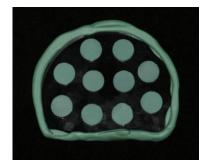


FIGURA 6B

FIGURA 6 - Padrões de silicone fixados na placa de vidro (A) e silicone posicionado ao redor dessa placa (B).

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

A parte inferior da mufla específica para micro-ondas foi isolada e preenchida com gesso pedra melhorado tipo IV – Herostone (Vigodent S.A. Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (Figura 7A), sobre o qual foi, então, posicionada a placa de vidro contendo os padrões, já incluídos com esse mesmo gesso, sob vibração (Figura 7B e C).



FIGURA 7A



FIGURA 7B



FIGURA 7C

FIGURA 7 - A) Parte inferior da mufla preenchida com gesso pedra melhorado; B) Placa de vidro contendo os padrões sendo incluída com gesso sob vibração; C) Todo o conjunto incluído em mufla.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

Após a presa do gesso, o vidro foi retirado, o gesso e os padrões de silicone foram isolados com Cel-lac (SS White Artigos Dentários, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a contra-mufla foi posicionada e preenchida com gesso, finalizandose, assim, a inclusão. Após a presa, a mufla foi aberta (Figura 8) e os padrões de silicone removidos (Figura 9), obtendo-se, dessa forma, os moldes para a confecção dos corpos-de-prova em contato com o gesso.



FIGURA 8 - Mufla aberta.



FIGURA 9 - Remoção dos padrões de silicone e obtenção do molde negativo.

Nesse momento, os moldes foram isolados com isolante para resina acrílica (Vipi Film - VIPI Indústria e Comércio Exportação e Importação de Produtos Odontológicos Ltda., Pirassununga, SP, Brasil), a resina foi proporcionada seguindo as instruções do fabricante, inserida nos orifícios e polimerizada, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos para a obtenção dos corpos-de-prova em contato com o vidro. Após o resfriamento da mufla, à temperatura ambiente, a mesma foi aberta e os corpos-de-prova retirados, sendo os excessos laterais removidos com o auxílio de uma ponta estéril (Maxi-Cut; Lesfils de August Malleifer SA, Ballaigues, Suíça) (Figura 10).



FIGURA 10 - Corpos-de-prova obtidos com superfícies rugosas.

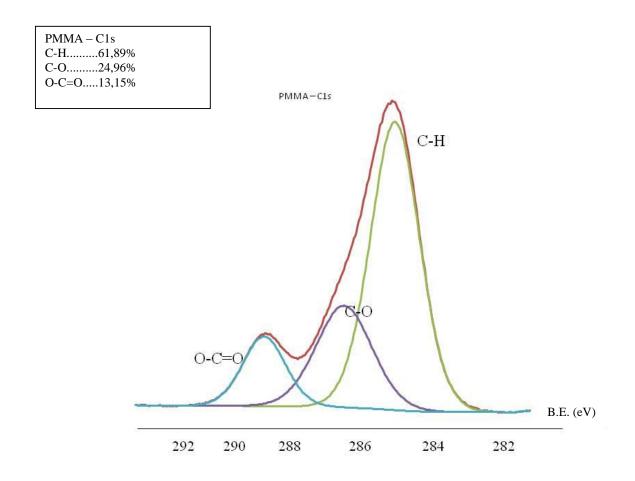
Todos os corpos-de-prova, com superfícies lisas e rugosas, foram confeccionados dentro de condições assépticas, por um único operador, atuando sobre superfície de papel estéril, utilizando instrumental esterilizado, roupas de proteção, luvas, óculos e máscaras descartáveis. Os corpos-de-prova obtidos foram lavados com água estéril e secos para medida da rugosidade superfícial e posterior aplicação dos vernizes.

4.2. Análise com espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)

A caracterização química da superfície dos corpos-de-prova foi realizada, em corpos-de-prova adicionais, utilizando-se espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS), que permitiu a confirmação da presença dos vernizes sobre a superfície dos corpos-de-prova, no momento dos testes de aderência. Essa análise foi realizada utilizando-se um espectrômetro (UNI-SPECS UHV). O ruído inelástico dos espectros C 1s, F 1s, O 1s, e N 1s foi subtraído utilizando-se o método de Shirley. As energias de ligação do espectro foram corrigidas usando um componente hidrocarbono do polímero fixado em 285.0 eV. A composição da camada de superfície foi determinada pelas proporções relativas das áreas de picos, corrigidas pelos fatores de sensitividade dos elementos correspondentes. A largura, à meia altura, variou entre 1.6 e 2.0 eV e o erro da posição dos picos foi de ± 0.1 eV.

Nesse estudo foram analisadas amostras tratadas com os vernizes P, E, T e M na concentração de 35%. Após a realização do teste foi confirmada para todos os quatro vernizes a presença dos átomos que compõem o PMMA

(polimetilmetacrilato – controle), assim como variações nos picos de carbono, oxigênio e hidrogênio que identificaram cada verniz. Para o verniz M, foi observada a presença de sulfato. Os gráficos representativos dos picos encontrados para os átomos de C1s, O1s, e SO4⁽⁻²⁾ (apenas para verniz M) estão ilustrados a seguir.



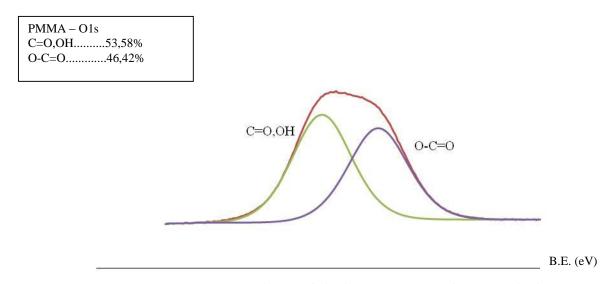
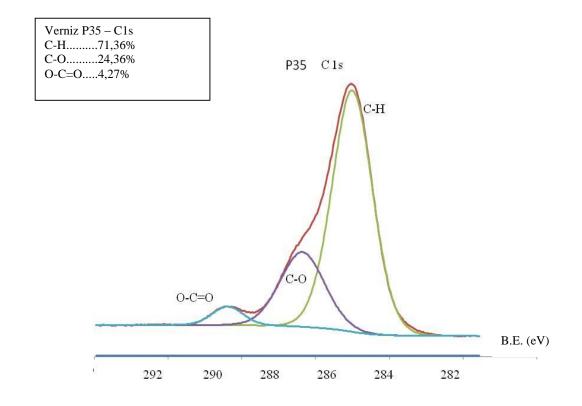
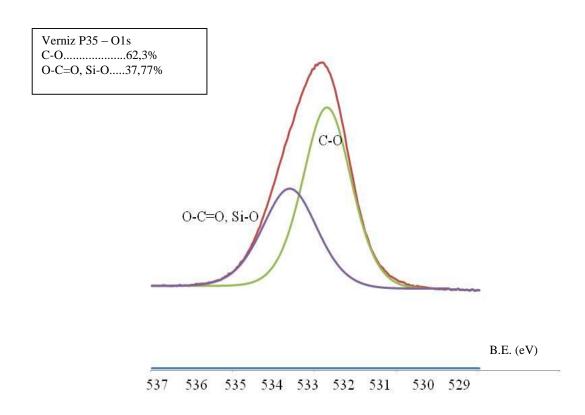
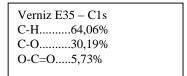


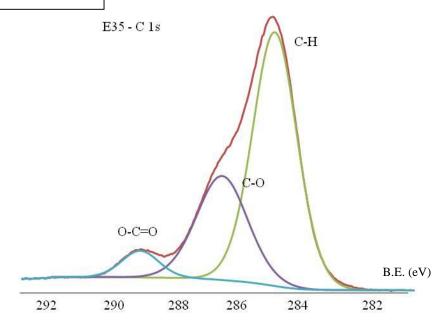
FIGURA 11- Caracterização da superfície do PMMA (controle), por meio do XPS.





XPS.





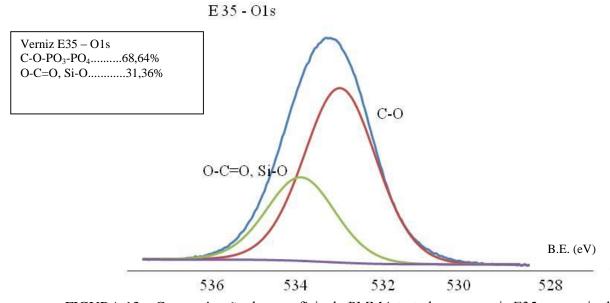
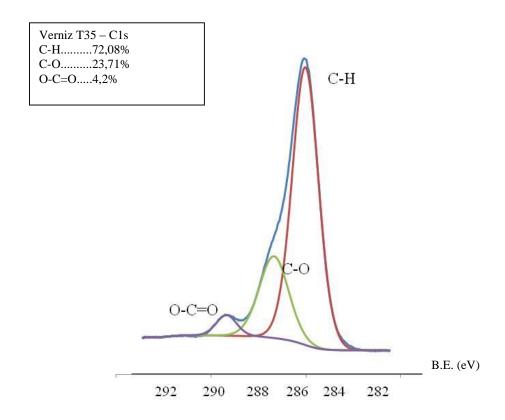


FIGURA 13 – Caracterização da superfície do PMMA tratada com verniz E35, por meio do XPS.



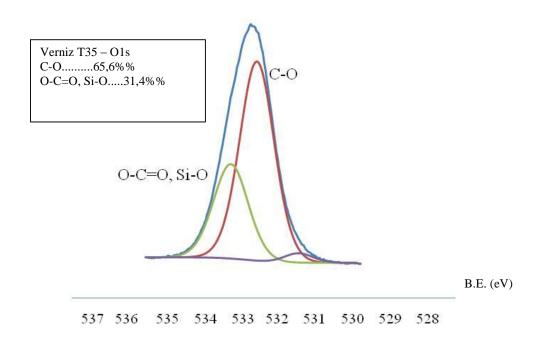
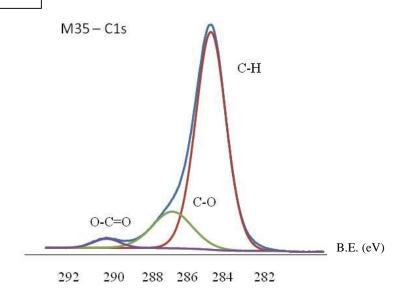


FIGURA 14 – Caracterização da superfície do PMMA tratada com verniz T35, por meio do XPS.

Verniz M35 – C1s C-H......64,06% C-O.....30,19% O-C=O....5,73%



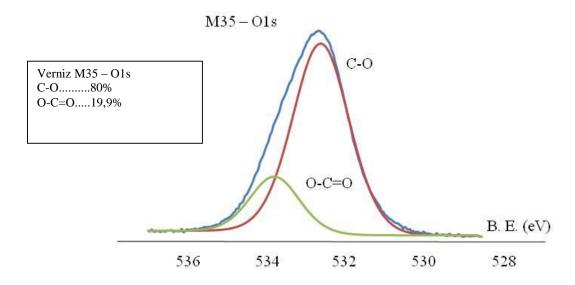


FIGURA 15.A- Caracterização da superfície do PMMA tratada com verniz M35, por meio do XPS.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

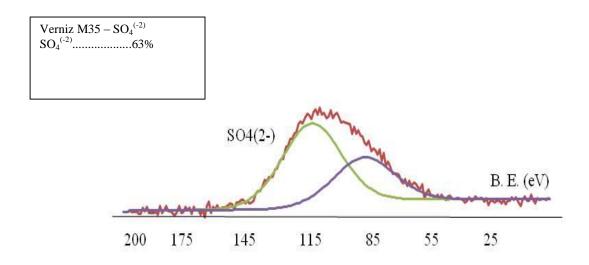


FIGURA 15.B- Caracterização da superfície do PMMA tratada com verniz M35, por meio do XPS.

4.3. Medida da rugosidade superficial

A rugosidade superficial dos corpos-de-prova foi medida utilizando-se um rugosímetro (Mitutoyo SJ 400 - Mitutoyo Corporation - Japão), com precisão de leitura de 0,01 μ m, comprimento de leitura de 2,5 mm, com velocidade da ponta ativa de 0,5 mm/s, e raio da ponta ativa de 5 μ m. Foram realizadas três medidas para cada corpo-de-prova e a média entre as leituras foi determinada como o valor da rugosidade média, Ra (μ m). Todas as medidas foram realizadas por um único operador

4.4. Aplicação dos vernizes experimentais

Após as medidas da rugosidade superficial, os corpos-de-prova foram divididos em 13 grupos constituídos por 72 corpos-de-prova cada, dos quais 36 apresentavam superfícies lisas e 36 superfícies rugosas. Para o grupo controle (C), os corpos-de-prova não receberam nenhum tratamento superficial. Nos grupos experimentais, uma camada de um dos 12 vernizes experimentais propostos foi aplicada nas duas superfícies dos corpos-de-prova. Foram avaliadas 4 composições de vernizes: 3 deles contendo monômeros hidrofílicos (2-3-hidroxipropil metacrilato – HPMA – verniz P; 2-hidroxietil metacrilato – HEMA – verniz E; 2-trimetilamonioetil metacrilato cloreto TMAEMC – verniz T), e 1

contendo monômero zwiteriônico (metacrilsulfobetaína – verniz M). Esses monômeros foram utilizados em 3 diferentes concentrações, 25%, 30% e 35% da composição total em milimol, totalizando-se, assim, 12 vernizes aplicados com pincel nos corpos-de-prova dos grupos experimentais (P25; P30; P35; E25; E30; E35; T25; T30; T35; M25; M30; M35). Além dos monômeros citados, todos os vernizes apresentavam também em sua composição, o monômero metil metacrilato (MMA), dois agentes de ligação cruzada (TEGDMA e Bis-GMA) e um agente iniciador (4-metil benzofenona – MPB). Os vernizes avaliados foram preparados por uma empresa da linha odontológica e suas composições estão apresentadas na tabela 1A - Apêndice 1.

A aplicação dos 12 vernizes, nas duas superfícies dos corpos-de-prova, foi realizada no interior de uma câmara de fluxo laminar estéril (Figura 16), seguida da fotopolimerização durante 4 minutos para cada superfície, em forno EDG (Strobolux, EDG Equipamentos, São Carlos, São Paulo, Brasil) (Figura 17). Para completar a formação do monômero zwiteriônico (verniz M), as amostras receberam uma camada de sultone, permanecendo durante 2 horas a 80°C em estufa. Todos os dispositivos necessários para a aplicação dos vernizes, incluindo o forno EDG, foram acondicionados no interior da câmara de fluxo laminar e expostos à luz ultravioleta durante 30 minutos, previamente à aplicação dos vernizes, para a esterilização dos equipamentos. A desinfecção interna do forno foi realizada com álcool 70%, para posterior utilização.

Após a aplicação dos vernizes, todos os corpos-de-prova foram individualmente armazenados e identificados em sacos plásticos, contendo água destilada estéril durante 48 horas, à temperatura ambiente, para liberação dos monômeros residuais.

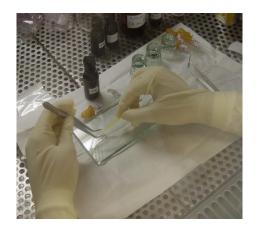




FIGURA 16 - Aplicação dos vernizes.

FIGURA 17 - Fotopolimerização no forno EDG (Strobolux).

5. Mensuração do ângulo de contato para avaliar a hidrofobicidade da superfície.

Antes dos testes microbiológicos, a fim de caracterizar a hidrofobicidade das superfícies, os ângulos de contato 10,23,30,39,49 dos corpos-de-prova foram mensurados utilizando-se um goniômetro (Contact Angle System OCA – Dataphysics) (Figura 18), ao qual é acoplada uma Bomba de Infusão - BI 2000 (Insight Equipaments). Esse aparelho possui uma câmera CCD, que registra a imagem da gota de água milli-Q estéril sobre a superfície do corpo-de-prova, e um software de processamento de imagem para determinar o ângulo direito e esquerdo da gota, obtendo-se assim a média. Para cada corpo-de-prova foram realizadas duas mensurações. A média entre as duas medidas foi obtida e considerada como o ângulo de contato médio do corpo-de-prova. Essa análise foi realizada no Laboratório de Físico-Química de Superfícies, no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP/RP.

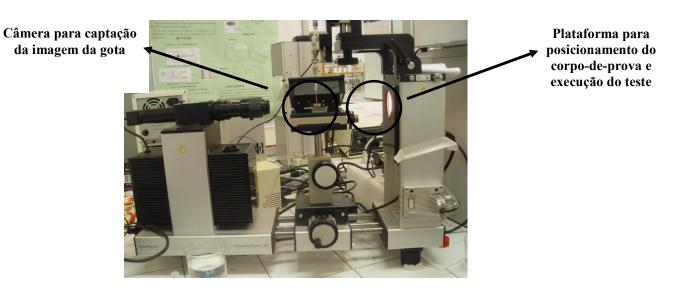


FIGURA 18 - Goniômetro Contact Angle System OCA.



FIGURA 19 – Superfície hidrofóbica FIGURA 20 – Superfície hidrofílica

As Figuras 19 e 20 ilustram as imagens registradas nas leituras obtidas após a aplicação dos vernizes, caracterizando a superfície como hidrofóbica ou hidrofílica, de acordo com o menor ou maior espalhamento do líquido sobre o corpo-de-prova.

Após a mensuração dos ângulos de contato, os corpos-de-prova foram novamente acondicionados, individualmente, em sacos plásticos estéreis e hermeticamente fechados.

6. Esterilização dos corpos-de-prova

Previamente aos testes microbiológicos, os corpos-de-prova, contidos em sacos plásticos estéreis, foram submetidos a banho em ultrassom (Ultra sonic

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

1440 plus – Odontobrás Ind. e Com. de Equipamentos Med. e Odont. Ltda. – Rib. Preto, SP, Brasil), por 20 minutos. Em seguida, na capela de fluxo laminar, os corpos-de-prova foram expostos à luz ultravioleta por 20 minutos, para cada face do corpo-de-prova, com o objetivo de eliminar possíveis micro-organismos.

7. Testes microbiológicos

7.1. Micro-organismo e condições de crescimento

Para o preparo do inóculo, o micro-organismo Candida albicans ATCC 90028 foi semeado sobre o meio Agar YEPD (1% [peso/vol] Yeast Extract, 2% [peso/vol] Peptone, 2% [peso/vol] Dextrose, 2% [peso/vol] Agar) e incubado a 37°C por 48 horas. Então, uma alçada da levedura recém-cultivada foi adicionada em um frasco contendo 20 ml de meio YNB (Yeast Nitrogen Base, Difco, Detroit, USA) adicionado de glicose a 50 mM. Após a incubação a 37 °C por 24 horas, as células foram centrifugadas a 5.000 g por 5 minutos e lavadas duas vezes com solução PBS estéril (NaCl 100 mM, NaH2PO4 100 mM, pH 7,2), por meio de agitação e centrifugação a 5.000 g por 5 minutos. As células lavadas foram, então, ressuspensas em caldo YNB estéril adicionado de glicose a 100 mM. A densidade óptica da suspensão foi determinada e padronizada utilizando-se espectrofotômetro (Biophotometer – Eppendorf AG – Hamburgo, Alemanha) a um valor final de 1,0 (DO 600 nm), correspondendo a 1 x 107 células/ml.

7.2. Coleta, preparo e pré-tratamento dos corpos-de-prova com saliva humana

A fim de avaliar o efeito da película salivar na aderência de *Candida albicans*, metade dos corpos-de-prova (n=9) foi exposto à saliva, previamente ao teste de aderência. Para isso, saliva não estimulada foi coletada de 50 indivíduos (alunos do último ano de graduação e pós-graduação) adultos e sadios de ambos os sexos. Uma quantia igual de saliva de cada doador (10 ml) foi misturada, homogeneizada e submetida à centrifugação a 5.000 *g* por 10 minutos, à 4 °C. O sobrenadante de saliva obtido (Figura 21) foi preparado a 50% (vol/vol) com PBS estéril⁶⁰. A saliva resultante foi imediatamente armazenada a -70 °C até a

realização dos testes microbiológicos, quando metade dos corpos-de-prova foi incubada com 3 ml da saliva preparada, à temperatura ambiente, por 30 minutos⁷⁴. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP (Processo n° 028/2007) (Anexo A) e todos os indivíduos voluntários assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

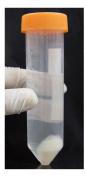


FIGURA 21 – Sobrenadante de saliva obtido após centrifugação

7.3. Adesão da Candida albicans nos corpos-de-prova

Uma alíquota de 3 ml da suspensão de *Candida albicans*, correspondendo a 1 × 107 células/ml, foi adicionada em cada poço de cultura estéril onde, posteriormente, foram posicionados os corpos-de-prova e mantidos a 37 °C, durante 90 minutos, para aderência dos micro-organismos - fase de adesão13. Transcorrido esse período, as células não aderidas foram removidas por meio de duas lavagens dos corpos-de-prova com PBS estéril. Controles negativos foram constituídos por corpos-de-prova e caldo YNB suplementado com glicose a 100 mM13. O experimento foi realizado em triplicata em três ocasiões distintas.

7.4. Ensaio de XTT

Para o ensaio de XTT 13,28,60, a solução de XTT (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA) foi preparada utilizando-se água ultra pura, a uma concentração de 1 mg/ml, e mantido a -70 °C, até o momento do experimento. A solução de menadiona foi preparada em acetona a 0.4 mM, antes de cada

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

experimento. Após a fase de adesão (90 minutos a 37 °C) e lavagem dos corposde-prova, os mesmos foram transferidos para outras placas de cultura de células estéreis com 12 orifícios, cada uma contendo PBS adicionado de glicose a 200 mM, solução de XTT previamente preparada e menadiona recém-preparada, na seguinte proporção: 158 µl de PBS 200 mM, 40 µl de XTT e 2 µl de menadiona. A placa foi incubada a 37 °C por 3 horas, quando então, uma alíquota de 200 µl do produto da degradação do XTT (sobrenadante) após ser centrifugada foi transferida para o orifício de uma placa de 96 orifícios (Figura 22). O resultado desta reação química foi medido utilizando-se o espectrofotômetro Thermo Plate TP-Reader (Thermo Plate) com filtro 492 nm (Figura 23).

7.5. Coloração cristal violeta

A adesão da *Candida albicans* sobre a superfície dos corpos-de-prova também foi avaliada pela contagem celular após coloração com cristal violeta. Para isso, após o procedimento de lavagem dos corpos-de-prova, os mesmos foram imersos em etanol a 80%, seguido da imersão em cristal violeta por 1 minuto e lavagem com PBS 19. A contagem das células aderidas foi realizada utilizando-se um microscópio óptico (Olympus BX51, Japan), em aumento de 400 vezes, em 10 diferentes campos da região central dos corpos-de-prova (Figura 24). A seguir, a média de células aderidas por corpo-de-prova foi calculada e os resultados expressos por células/mm².





FIGURA 22 – Placa de 96 orifícios contendo 200 µl do produto de degradação

FIGURA 23 – Espectrofotômetro Thermo Plate TP-Reader.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

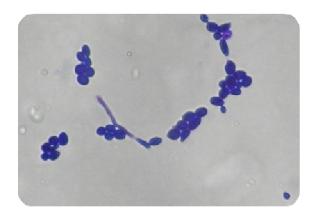


FIGURA 24 – Imagem fotográfica de células de *Candida albicans* aderidas no corpo-de-prova, observada em microscópio óptico, após coloração com cristal violeta.

8. Metodologia Estatística

Em relação à rugosidade das superfícies antes da aplicação dos vernizes, os corpos-de-prova foram divididos em dois conjuntos (total - n=936), de acordo com o método de processamento (2 tipos): entre vidros (n=468) ou em contato com o gesso (n=468). A avaliação do efeito desses dois processamentos sobre a rugosidade foi realizada pelo método de Mann-Whitney, devido a não normalidade desta variável. Em seguida aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis para averiguar a equivalência de rugosidade entre grupos sobre os quais seriam aplicados vernizes (4 tipos) em três concentrações.

A análise de variância foi empregada para avaliar o efeito dos tratamentos com vernizes em estudo, juntamente com dois grupos controle, sobre o ângulo de contato. Esta análise foi complementada pelo teste de Tukey de comparações múltiplas de médias.

As avaliações dos efeitos dos tratamentos com vernizes, em diversas concentrações, sobre a adesão de *Candida albicans* determinada por dois métodos: XTT e Coloração cristal violeta foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas não-paramétricas por meio do

programa computacional Statistica 6.0 da Statsoft. Em todas as análises, adotou-se o nível de significância de 5% para a tomada de decisão.



9. Resultado

Ensaio de XTT

Para avaliar o efeito do método de confecção dos corpos-de-prova sobre a rugosidade superficial, os valores obtidos foram analisados pelo teste de Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%, que demonstrou diferença significativa entre os dois métodos. Para cada método de confecção, a equivalência de rugosidade entre as condições experimentais foi avaliada pelo teste não paramétrico de Kruskall-Wallis, ao nível de significância de 5% (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias e desvios padrão (DP) dos valores de rugosidade (Ra-μm) dos grupos de acordo com os métodos de confecção dos corpos-de-prova

	Método de confecção					
Grupos	Vidro		Gesso			
	Média	(DP)	Média	lia (DP)		
Controle	0,19	(0,07) ^a	1,95	(0,51) ^b		
M25	0,17	$(0,08)^{a}$	2,13	$(0,80)^{b}$		
M30	0,19	$(0,09)^{a}$	2,29	$(0,70)^{b}$		
M35	0,18	$(0,07)^{a}$	1,95	$(0,74)^{b}$		
P25	0,16	$(0,09)^{a}$	2,11	$(0,54)^{b}$		
P30	0,20	$(0,08)^{a}$	2,05	$(0,69)^{b}$		
P35	0,23	$(0,06)^{a}$	1,73	$(0,53)^{b}$		
E25	0,23	$(0,06)^{a}$	1,78	$(0,56)^{b}$		
E30	0,17	$(0,08)^{a}$	1,90	$(0,77)^{b}$		
E35	0,17	$(0,07)^{a}$	2,09	$(0,61)^{b}$		
T25	0,17	$(0,08)^{a}$	1,93	$(0,78)^{b}$		
T30	0,15	$(0,07)^{a}$	1,74	$(0,52)^{b}$		
T35	0,17	$(0,08)^{a}$	1,94	$(0,79)^{b}$		
uskal-Wallis		p=0,083		p:		

Médias com letras iguais não são significativamente diferentes a 5%.

De acordo com a tabela 2, verifica-se que não houve diferenças significativas entre os valores médios de rugosidade dentro do mesmo método, para os dois métodos utilizados de confecção dos corpos-de-prova. A tabela 2 demonstra, ainda, que as médias de rugosidade dos corpos-de-prova polimerizados em contato com o gesso foram maiores comparadas àquelas observadas para os corpos-de-prova confeccionados entre vidros, para todos os grupos avaliados.

Para avaliar o efeito dos fatores em estudo sobre o ângulo de contato foi utilizada a Análise de Variância, seguida pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise de Variância para o ângulo de contato

	Graus de	Média	F	p
	liberdade	quadrática		
Verniz	3	2905,91	79,73	<0,001*
Concentração	2	49,03	1,35	0,262
Método de confecção	1	2043,03	56,05	<0,001*
Verniz x Concentração	6	346,56	9,51	<0,001*
Verniz x Método de confecção	3	618,23	16,96	<0,001*
Concentração x Método de confecção	2	750,09	20,58	<0,001*
Verniz x Concentração x Método de	6	318,83	8,75	<0,001*
confecção				
Resíduo	442	36,45		

^{*}Estatisticamente significativo ao nível de 5%.

As médias e os desvios padrão de ângulo de contato, de acordo com o método de confecção e grupos, estão apresentados na tabela 4.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

Tabela 4 - Médias e desvios padrão (DP) de ângulos de contato de acordo com os grupos e métodos de confecção dos corpos-de-prova avaliados

	Método de confecção								
Grupos	Vidro Média (DP)			Ges	Gesso				
				Média	(DP)				
Controle	65,31	(5,20)	ab	70,23	(5,37)	с			
M25	63,81	(4,82)	a	67,04	(3,99)	c			
M30	63,90	(4,84)	a	67,51	(4,52)	c			
M35	64,33	(6,57)	ab	45,94	(8,60)	a *	•		
P25	64,62	(7,22)	ab	56,65	(3,91)	b *			
P30	65,37	(7,83)	ab	56,42	(7,46)	b *			
P35	63,98	(6,46)	a	47,60	(8,80)	a *			
E25	70,83	(4,03)	ab	68,17	(4,39)	c			
E30	71,15	(6,91)	ab	73,34	(5,03)	c			
E35	71,02	(6,48)	ab	72,26	(6,98)	c			
T25	69,99	(5,27)	ab	67,53	(8,43)	c			
T30	69,36	(4,27)	ab	67,76	(3,67)	c			
T35	71,48	(5,40)	b	66,38	(5,39)	c			

Médias com letras iguais na *vertical* não são significativamente diferentes a 5%.

A análise da Tabela 4 demonstra que, para o método de confecção entre vidros, as médias de ângulo de contato dos grupos M25, M30, P35 foram estatisticamente iguais entre si e menores que a média apresentada pelo grupo T35. Todos os outros grupos, incluindo o controle, apresentaram médias intermediárias e equivalentes tanto ao maior como ao menor valor observado. Para o método de confecção em contato com o gesso, os vernizes M35, P25, P30 e P35 proporcionaram médias de ângulo de contato estatisticamente menores que os demais grupos. Além disso, essas médias também foram estatisticamente menores comparadas àquelas observadas nos corpos-de-prova confeccionados entre vidros.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

^{*} Médias na *horizontal* significativamente diferentes a 5%.

Para os demais grupos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias obtidas nos dois métodos de confecção.

Os valores de absorbância obtidos por meio do Ensaio de XTT foram analisados, inicialmente, por meio do teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. Esse teste indicou diferença significativa entre os vernizes, porém comparações múltiplas não-paramétricas não identificaram diferença significativa quanto à presença ou ausência de saliva. Dessa forma, os 9 valores de cada verniz, com e sem saliva foram agrupados (n=18) e utilizados para a comparação entre grupos, por meio da análise não paramétrica de Kruskal-Wallis, ao nível de 5%. O teste indicou diferença significativa e as comparações múltiplas não-paramétricas foram executadas e estão apresentadas na tabela 5.

Tabela 5 – Medianas (Med), mínimo (Min) e máximo (Max) de absorbâncias (XTT) dos grupos, de acordo com os métodos de confecção dos corpos-de-prova e presença ou ausência de saliva

		Método de confecção							
Grupos	Saliva	Vidro			Gesso				
		Med	Mín	Máx	5	Med	Mín	Máx	=
Controle	Ausente Presente	0,54 1,08	0,43 0,68	0,97 1,23	a a	1,23 1,33	0,83 1,05	1,62 1,60	b *
M25	Ausente	0,83	0,67	1,21	a	0,94	0,46	1,13	ab
	Presente	0,94	0,75	1,40	a	0,87	0,66	1,52	ab
M30	Ausente	0,69	0,45	1,34	a	0,65	0,36	1,11	a
	Presente	0,91	0,48	1,63	a	0,91	0,72	1,70	a
M35	Ausente	0,80	0,57	1,14	a	0,54	0,38	0,98	a
	Presente	0,83	0,57	1,42	a	1,02	0,62	1,62	a
P25	Ausente	0,77	0,51	1,10	a	0,80	0,45	1,12	ab
	Presente	1,15	0,46	1,53	a	1,16	0,71	1,32	ab
P30	Ausente	0,59	0,40	0,95	a	0,72	0,40	0,94	a
	Presente	0,87	0,50	1,55	a	1,07	0,59	1,45	a
P35	Ausente	0,66	0,31	1,03	a	0,91	0,51	1,19	ab
	Presente	1,00	0,61	1,46	a	1,19	0,72	1,77	ab
E25	Ausente	0,77	0,45	1,03	a	0,74	0,41	0,87	ab
	Presente	0,90	0,56	1,31	a	1,12	0,85	1,40	ab
E30	Ausente	0,77	0,55	1,02	a	0,80	0,46	1,19	ab
	Presente	0,91	0,58	1,33	a	1,42	0,81	1,50	ab
E35	Ausente	0,79	0,33	1,21	a	0,93	0,50	1,61	ab
	Presente	0,82	0,55	1,47	a	1,27	0,92	1,74	ab
T25	Ausente	0,81	0,65	1,22	a	0,99	0,57	1,41	ab
	Presente	1,04	0,58	1,66	a	1,25	1,00	1,92	ab
T30	Ausente	0,85	0,39	1,14	a	1,10	0,82	1,31	ab
	Presente	1,01	0,41	1,41	a	1,27	0,85	1,70	ab
T35	Ausente	0,80	0,59	1,15	a	1,01	0,68	1,39	ab
	Presente	0,96	0,45	1,64	a	1,22	1,01	1,95	ab

Grupos com letras iguais na *vertical* não são significativamente diferentes a 5%.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

^{*} Grupos obtidos entre vidros ou gesso diferem significativamente a 5%.

Conforme pode ser observado na tabela 5, não houve diferença estatisticamente significante entre todos os grupos para o método de confecção dos corpos-de-prova entre vidros. Quando observamos os resultados para o método de confecção em contato com gesso, nota-se que valores maiores de absorbância são exibidos pelo grupo controle e valores menores para os vernizes M30, M35 e P30. Os outros grupos apresentaram valores intermediários de absorbância. Quando os métodos de confecção dos corpos-de-prova são comparados, observa-se diferença estatisticamente significativa apenas entre os grupos controles, evidenciando valores maiores de absorbância para a confecção em contato com o gesso.

Coloração Cristal Violeta

O teste de Mann-Whitney, ao nível de 5% de significância, foi aplicado aos valores de rugosidade para analisar se houve diferença considerando-se o método de confecção dos corpos-de-prova. A equivalência das médias de rugosidade entre grupos, para cada método de confecção, foi avaliada pela aplicação do teste não paramétrico de Kruskall-Wallis, ao nível de significância de 5% (Tabela 6).

Tabela 6 – Médias e desvios padrão (DP) dos valores de rugosidade (Ra-μm) dos grupos, de acordo com os métodos de confecção dos corpos-de-prova

	Método de confecção				
Grupos	Vidro		G	esso	
	Média (DP)		Média (DP)		
Controle	0,20	(0,08) ^a	2,17	(0,65) ^b	
M25	0,16	$(0,08)^{a}$	2,11	$(0,71)^{b}$	
M30	0,17	$(0,07)^{a}$	1,96	(0,61) ^b	
M35	0,17	$(0,08)^{a}$	1,94	(0,66) ^b	
P25	0,17	$(0,08)^{a}$	1,85	(0,59) ^b	
P30	0,17	$(0,09)^{a}$	1,68	$(0,55)^{b}$	
P35	0,21	$(0,07)^{a}$	1,82	$(0,67)^{b}$	
E25	0,18	$(0,08)^{a}$	1,71	$(0,36)^{b}$	
E30	0,16	$(0,08)^{a}$	1,74	$(0,41)^{b}$	
E35	0,18	$(0,08)^{a}$	1,76	$(0,70)^{b}$	
T25	0,20	$(0,08)^{a}$	1,85	$(0,40)^{b}$	
T30	0,17	$(0,09)^{a}$	1,65	$(0,40)^{b}$	
T35	0,16	$(0,07)^{a}$	1,81	$(0,37)^{b}$	
ruskal-Wallis		p=0,705		p=0,2	

Médias com letras iguais não são significativamente diferentes a 5%.

De acordo com o observado na Tabela 6, os valores médios de rugosidade não apresentaram diferenças estatisticamente significativas dentro do mesmo método entre todos os grupos, para os dois métodos de confecção avaliados. Foi verificado também, que as médias de rugosidade dos corpos-de-prova polimerizados em contato com o gesso foram superiores quando comparadas às médias apresentadas pelo método de confecção entre vidros, para todos os grupos avaliados.

A Análise de Variância, aplicada nos valores de ângulo de contato, indicou diferenças estatisticamente significativas para todas as interações (Tabela 7).

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

Tabela 7- Análise de Variância para o ângulo de contato

	Graus de	Média	F	p	
	liberdade	quadrática			
Verniz	3	564,35	21,37	<0,001	*
Concentração	2	53,99	2,04	0,131	
Método de confecção	1	367,99	13,94	<0,001	*
Verniz x Concentração	6	118,10	4,47	<0,001	*
Verniz x Método de confecção	3	462,05	17,50	<0,001	*
Concentração x Método de confecção	2	93,08	3,52	0,030	*
Verniz x Concentração x método de confecção	6	175,87	6,66	<0,001	*
Resíduo	442	26,41			

^{*} Estatisticamente significativo ao nível de 5%.

Para avaliar o efeito dos métodos de confecção dos corpos-de-prova (entre vidros e em contato com o gesso) sobre os valores de ângulo de contato foi aplicado teste de Tukey, ao nível de significância de 5% (Tabela 8).

Tabela 8 - Médias e desvios padrão (DP) de ângulos de contato para os grupos e métodos de confecção avaliados

	Método de confecção						
Grupos	Vidro	Gesso*					
	Média (DP)	Média (DP)					
Controle	63,19 (5,98) abc	68,51 (5,73) ^a					
M25	61,51 (6,04) ^{ab}	66,41 (4,95) ^a					
M30	67,84 (5,94) ^{cd}	69,06 (5,18) ^a					
M35	68,37 (5,43) ^{cd}	66,63 (3,94) ^a					
P25	68,39 (6,38) ^{cd}	67,93 (5,07) ^a					
P30	58,26 (5,66) ^a	71,47 (4,36) ^a					
P35	59,65 (6,43) ^a	69,67 (4,18) ^a					
E25	68,78 (5,92) ^{cd}	69,53 (4,67) ^a					
E30	69,70 (4,46) ^d	69,95 (4,30) ^a					
E35	67,71 (4,39) bcd	68,37 (4,23) ^a					
T25	73,74 (4,67) ^d	68,80 (5,62) ^a					
T30	72,65 (5,43) ^d	70,73 (4,11) ^a					
T35	69,64 (4,36) ^d	69,83 (4,74) ^a					

Médias com letras iguais na *vertical* não são significativamente diferentes a 5%.

A análise da tabela 8 demonstra que, para o método de confecção entre vidros, as médias de ângulo de contato de P30 e P35 foram estatisticamente iguais entre si e menores quando comparadas àquelas observadas para E30, T25, T30 e T35. Para o método de confecção em contato com o gesso não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre todos os grupos. A tabela 8 revela ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas dos ângulos de contato entre os métodos de confecção para todos os grupos avaliados.

Para avaliar os efeitos da aplicação dos vernizes, método de confecção dos corpos-de-prova (superfície entre vidros e em contato com gesso) e saliva

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

^{*} Não há diferença significativa entre médias na *horizontal* a 5%.

(presença ou ausência de saliva) sobre os valores da contagem de células por mm² foi aplicado teste de Kruskal-Wallis, evidenciando diferenças significativas entre grupos em relação à adesão de *Candida albicans*. Em seguida foi realizado teste de comparações múltiplas não paramétricas, ao nível de 5% de significância.

A tabela 9 revela que, dentro de cada grupo, o método de confecção entre vidros, não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre as médias obtidas com presença ou ausência de saliva. Para as amostras pré-condicionadas com saliva não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos. Para as amostras não expostas previamente à saliva, as médias obtidas com M35, P35 e E35 foram estatisticamente iguais entre si e menores quando comparadas à média do grupo controle. Para o método de confecção em contato com o gesso, a tabela 9 evidencia que o pré-condicionamento com saliva proporcionou médias de contagem de células por mm² estatisticamente menores que as amostras não condicionadas para os grupos M25, M30 e P30. Para os demais grupos não houve diferenças estatisticamente significativas quando as médias obtidas com presença e ausência de saliva foram comparadas. Para as amostras não submetidas ao pré-condicionamento com saliva não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos. Com a presença de saliva, as médias proporcionadas pelo M25, M30 e M35 foram estatisticamente iguais entre si e menores que aquela observada para T35. As médias obtidas para os grupos M25, M30, P35, E30, E35 e T35, no método de confecção em contato com o gesso e na ausência de saliva, foram estatisticamente maiores que aquelas observadas para esses grupos no método de confecção entre vidros. Por outro lado, a média observada para o M25, no método de confecção em contato com o gesso na presença de saliva, foi estatisticamente menor comparada àquela observada para esse grupo no método de confecção entre vidros.

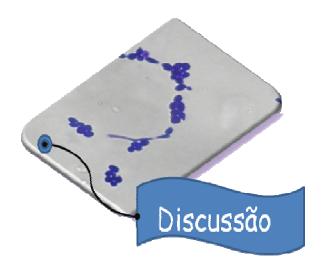
Tabela 9 - Medianas (Med), mínimo (Min) e máximo (Max) valores de contagem de células (mm²) (coloração cristal violeta) dos grupos de acordo com os métodos de confecção dos corpos-de-prova e presença ou ausência de saliva

		Método de confecção								
Grupos	Saliva		Vidro)			Gesso			
		Med	Mín	Máx	-	Med	Mín	Máx	-	
Controle	Ausente Presente	733 704	582 283	849 1097	cd bcd	1104 1185	624 106	1821 2131	de abcde	
M25	Ausente Presente	213 850	92 678	332 1259	abcd d	1449 172	487 85	2206 314	e a	*
M30	Ausente Presente	145 479	53 212	281 638	abc abcd	1090 146	932 92	1321 377	de a	*
M35	Ausente Presente	18 568	0 406	172 669	a abcd	753 155	174 105	1097 386	abcde ab	
P25	Ausente Presente	467 481	324 412	588 596	abcd abcd	1417 490	1147 300	2482 759	e abcde	
P30	Ausente Presente	433 556	342 394	519 622	abcd abcd	1781 278	1004 192	2285 503	e abcd	
P35	Ausente Presente	124 471	0 382	249 547	ab abcd	2349 442	1983 96	2974 1244	e abcde	*
E25	Ausente Presente	478 460	341 277	509 612	abcd abcd	1104 1070	1085 137	1281 1850	de abcde	
E30	Ausente Presente	229 376	214 329	277 599	abcd abcd	1108 446	986 129	1314 694	de abcde	*
E35	Ausente Presente	92 192	5 133	417 364	ab abcd	876 145	585 27	1158 672	bcde abc	*
T25	Ausente Presente	394 445	315 396	499 535	abcd abcd	753 914	496 123	1355 1160	bcde abcde	
T30	Ausente Presente	279 360	231 277	327 472	abcd abcd	960 759	394 123	1105 1176	abcde abcde	
T35	Ausente Presente	179 232	18 83	250 351	abc abcd	924 1037	519 433	1300 1960	bcde cde	*

Grupos com letras iguais na vertical não são significativamente diferentes a 5%.

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

^{*} Grupos obtidos entre vidros ou gesso diferem significativamente a 5%.



10. Discussão

O presente estudo avaliou a efetividade de quatro vernizes experimentais, em três diferentes concentrações, na redução da aderência de Candida albicans sobre a superfície de uma resina acrílica para base de prótese. Os mecanismos exatos por meio dos quais o processo de adesão das espécies de Candida às superfícies ocorre, além de complexos, não são completamente conhecidos ⁴⁸. Entre os diversos fatores que podem influenciar a aderência dos micro-organismos às superfícies está a rugosidade superfícial⁸² que aumenta a área superfícial disponível para a adesão e pode atuar como nichos para os microorganismos^{14,58,66}, protegendo-os contra a higienização mecânica e contra a ação das soluções de enxágüe específicas para o meio bucal. Com relação a esse aspecto, a prótese dentária é constituída por uma superfície lisa e polida, que mantém contato com a mucosa jugal, e uma superfície não polida e rugosa, correspondente à parte interna em contato com o palato. Alguns autores ^{22,40,72,75,82} têm sugerido que o aumento da rugosidade superficial pode contribuir para a retenção de micro-organismos. Assim, sugere-se que superfícies mais rugosas, como a superfície interna das próteses, retenham maior quantidade e diversidade de micro-organismos da microflora bucal^{17,18}.

Neste estudo, os dois métodos de confecção dos corpos-de-prova utilizados permitiram a obtenção de superfícies com diferentes valores de rugosidades superfíciais, de maneira que, todos os grupos foram compostos de metade dos corpos-de-prova processada em contato com o gesso e a outra metade processada entre vidros, a fim de serem obtidas, respectivamente, superfícies rugosas e lisas, simulando as duas superfícies componentes das próteses dentárias.

Após a obtenção dos corpos-de-prova por meio desses dois métodos, foram realizadas mensurações da rugosidade superficial. A literatura apresenta estudos que utilizam vários parâmetros de leitura, dentre eles Rz, Rt, Ry e Ra, no entanto, o mais utilizado tem sido o parâmetro Ra, tendo como a unidade de medida, o micrômetro⁷⁴. A medida da rugosidade superficial, realizada por meio do padrão Ra, caracteriza-se pelos registros de todos os picos e depressões

presentes na topografia superficial de um determinado comprimento⁷⁴, obtendo-se assim, a rugosidade média, e caracterizando-se, de forma adequada, a superfície da amostra. As medidas de rugosidade superficial obtidas neste estudo revelam que para todos os grupos avaliados, os valores de rugosidade obtidos com os corpos-de-prova processados em contato com o gesso foram sempre superiores aqueles dos corpos-de-prova processados entre vidros. A rugosidade média obtida para as superfícies confeccionadas entre vidros foi inferior a 0,23 µm, enquanto a rugosidade média obtida para as superfícies confeccionadas em contato com gesso foi superior a 1,65 μm. A confecção dessas superfícies diferentes em relação à rugosidade foi realizada na tentativa de evidenciar a possível ação dos vernizes. A análise estatística evidenciou ainda que, para cada método de confecção, os corpos-de-prova constituintes das condições experimentais (vernizes aplicados, ausência ou presença de saliva e Ensaio de XTT ou Coloração cristal violeta) apresentaram médias de rugosidades que não diferiram estatisticamente dentro de cada método. Esse dado confirma a distribuição homogênea dos corpos-de-prova com relação aos valores de rugosidade superficial em cada grupo. Para Radford et al.⁵⁷ (1999)e Zissis et al.⁸² (2000), poucos são os estudos direcionados a avaliar a rugosidade de superfície e como esse fator influencia na retenção de microorganismos. No estudo de Zissis et al. 82 (2000) foi verificado que o intervalo de rugosidade entre as resinas avaliadas, autopolimerizáveis, termopolimerizáveis convencionalmente e por meio de micro-ondas, variaram de 0,7 a 7,6 µm, sendo que para os materiais para base de prótese esses valores variaram entre 3,4 e 7,6 μm. As duas resinas acrílicas termopolimerizadas por meio de micro-ondas exibiram maiores valores de rugosidades de superfície comparadas àquelas termopolimerizadas convencionalmente. De acordo com os autores⁸² nenhuma redução da aderência de fungos e bactérias pode ser esperada quando os valores de rugosidade são inferiores ao limite de 0,2 micrômetros. O efeito da rugosidade de superfície em relação à retenção de Candida albicans foi avaliado por Verran e Maryan⁷⁴, em 1997, que observaram maior número de células aderidas nas superfícies rugosas do polimetilmetacrilato (PMMA), comparadas às superfícies lisas do PMMA e ao silicone. Radford et al.⁵⁷ (1999) e Pereira-Cenci et al.⁵⁴ (2007)

afirmam que a rugosidade superficial correlaciona-se positivamente com a retenção fúngica. Os resultados obtidos por Tari et al. 72 (2007) demonstraram que o aumento da rugosidade superficial, promovido pelo processo de envelhecimento de materiais reembasadores resilientes, aumentou a adesão de *Candida albicans*. No presente estudo, a avaliação do efeito da rugosidade sobre a aderência de Candida albicans revelou ausência de diferencas estatisticamente significantes, exceto para o gesso. Neste, apesar de ter sido utilizada a resina acrílica Vipi Wave, polimerizada por meio de micro-ondas, esta não apresentou valores tão altos de rugosidade superficial quanto aqueles mencionados no estudo de Zissis et al. 82 (2000) Esse resultado discorda dos obtidos em estudos anteriormente citados^{72,74}, por outro lado, recentemente, outros autores^{40,42} também não observaram influência significante da rugosidade sobre a aderência de Candida albicans, concordando com os resultados observados neste estudo. Embora, os valores de rugosidade de superfície dos corpos-de-prova confeccionados em contato com gesso tenham sido maiores aos obtidos nos corpos-de-prova confeccionados entre vidros, resultados mais consistentes em relação ao efeito da rugosidade superficial sobre a adesão de Candida albicans, podem, provavelmente, serem alcançados utilizando-se rugosidades superiores àquelas obtidas neste estudo, como os valores obtidos por Zissis et al. 82 (2000), em que os materiais de base de prótese apresentaram valores de rugosidade superficial variando entre 3,4 e 7,6 μm.

A medida de ângulo de contato, realizada neste estudo, objetivou verificar o efeito dos vernizes sobre a hidrofilicidade dos corpos-de-prova e sua possível influência sobre a aderência de *Candida albicans*. A característica de hidrofobicidade da superfície é outro fator que pode influenciar a aderência de *Candida albicans* às superfícies^{42,80}. Muitos são os autores^{10,22,29,38,48,50,69,70}, que utilizam a medida de ângulo de contato para caracterização da hidrofobicidade superficial, tanto em substratos inertes como na parede de células vivas. Klotz et al.²⁹ (1985) encontraram uma relação linear entre o número de células aderidas por unidade de área e o ângulo de contato do substrato, ou seja, quanto mais hidrofóbica a superfície, maior a aderência celular por unidade de área. Por outro

lado, Minagi et al.³⁸ (1985) observaram que o aumento da energia livre da resina, ou seja, diminuição do ângulo de contato, resultou em aumento da aderência de Candida albicans, por outro lado, uma diminuição da aderência de Candida tropicalis. Os resultados obtidos por Minagi et al. 38 (1985) foram atribuídos à aproximação entre as energias de superfície dos substratos e os micro-organismos avaliados, ou seja, quanto mais próximas a energia livre de superfície do substrato e do micro-organismo, maior a probabilidade de ocorrer aderência. Mais recentemente, Hirota et al.²³ (2005) ao estudarem recobrimentos superficiais observaram que as modificações nas resinas ocasionaram alterações nas medidas de ângulos de contato, como o aumento da hidrofilicidade, e essas alterações foram compatíveis com a diminuição da aderência da Candida albicans. Diante disso, considerando-se que superfícies mais hidrofílicas poderiam reduzir a adesão, foi idealizado para este estudo que alguns vernizes apresentariam, como mecanismo de ação, a capacidade de tornar a superfície mais hidrofílica, com o intuito de prevenir ou diminuir a adesão de Candida albicans. Portanto, para verificar se a aplicação dos vernizes alteraria os valores de ângulos de contato e influenciaria a adesão foi estabelecida a leitura de ângulo de contato, após 48 horas de sua aplicação e imersão em água destilada estéril, momento em que seriam realizados os testes microbiológicos. Os resultados obtidos demonstraram que a diferença detectada entre os ângulos, entre as duas técnicas utilizadas (Ensaio de XTT e Coloração cristal violeta), foi muito pequena e clinicamente essa diferença não seria significante para refletir em adesão fúngica. Além disso, apesar de ter sido detectada diferença significativa nos ângulos de contato dos vernizes sobre a superfície obtida entre vidros, nenhum grupo diferiu significativamente do controle. Os resultados demonstram que para a superfície obtida entre vidros, os ângulos de contato dos vernizes M25, M30 e P35 foram iguais entre si. No entanto, não foram diferentes do controle. Para as amostras utilizadas na coloração foi observado que o verniz P35 também apresentou valores inferiores de ângulos de contato comparados ao T35. A superfície confeccionada entre vidros favoreceu a diminuição de ângulo de contato para o verniz P, enquanto o T apresentou-se mais hidrofóbico. Os valores de ângulo de

contato são dependentes da composição química dos substratos⁵⁰. O verniz P possui em sua composição o monômero HPMA (2-3 hidroxipropil metacrilato) que se caracteriza pela hidrofilicidade. Por outro lado, o verniz M é composto por uma base polimérica de polimetilmetacrilato adicionado da sulfobetaína, componente da classe dos materiais poliméricos zwiteriônicos⁸¹. A sulfobetaína, que substitui o MPC (2-metacriloiloxietil fosforilcolina) em diversos estudos^{23,24,32,41}, é amplamente estudada e caracterizada pela biocompatilidade e propriedades não aderentes relacionadas aos micro-organismos. Além disso, essa molécula possui uma estrutura fortemente dipolar, sendo que o grupo lateral zwiteriônico proporciona propriedades específicas, como alta rigidez na cadeia e uma propriedade única antipolieletrolítica, ou seja, os zwiteriônicos bloqueiam os sinais químicos de Na+ e K+ que atraem os micro-organismos. A sulfobetaína pode ser adicionada ("grafted") a outros polímeros transferindo a eles suas propriedades de biocompatibilidade e capacidade de diminuição de adesão microbiológica⁷⁷. Em termos gerais, quando esta molécula está presente, deve-se esperar que a superfície tratada apresente características hidrofílicas comparadas às superfícies que não a contenham em sua composição. Para comprovar a presença dos vernizes sobre as superfícies dos corpos-de-prova, previamente aos testes microbiológicos, foi realizada a análise de XPS^{22,24} que constatou a presença do sulfato, grupo que identifica os vernizes M, e do fosfato, que identifica o verniz P, comprovando a manutenção desses vernizes mesmo após o armazenamento em água. Assim, apesar da presença confirmada de vernizes com características hidrofílicas, os valores de ângulos de contato, previamente aos testes microbiológicos, não demonstraram alterações que poderiam justificar diminuição na aderência de Candida albicans. Isto pode ter ocorrido devido ao armazenamento em água dos corpos-de-prova, preconizado após a confecção de uma prótese para liberação de monômeros residuais, visto que este pode influir nos valores de ângulos de contato dos vernizes, possivelmente, devido à reorientação e hidratação molecular que ocorre após o molhamento superficial que pode definir a capacidade de formação de pontes de hidrogênio com a água⁷⁷.

Portanto, no presente estudo, alterações na aderência de *Candida albicans* não puderam ser correlacionadas aos valores de ângulos de contato.

A literatura 55,57,63,66,71 é clara ao afirmar que o processo de adesão é influenciado por diversos fatores, dentre eles destaca-se a presença de proteínas existentes na saliva, assim como a presença de bactérias^{55,63}e outros microorganismos que desempenham papel crucial para o sucesso da adesão da Candida e posterior formação de biofilmes⁷³. Tendo em vista esses fatores, metade das amostras foi pré-incubada com saliva, previamente aos testes que verificariam a adesão, Ensaio de XTT e Coloração cristal violeta, para avaliar a influência desta sobre a adesão de C. albicans. Para isso, os corpos-de-prova permaneceram imersos por 30 minutos em saliva, à temperatura ambiente. Para o ensaio de XTT, foi verificado que a saliva não influenciou os resultados, sendo que, não foram encontradas diferenças estatísticas dentro de cada grupo, para a presença ou ausência de saliva, assim como não houve diferença entre os grupos para cada método. Resultados semelhantes foram encontrados por Karaagaclioglu et al ²⁸ (2008) e Pereira-Cenci et al.⁵⁵ (2008). No entanto, autores ^{13,22,44-47,72}, observaram em seus estudos que a presença em saliva aumentou a adesão dos microorganismos avaliados. Por outro lado, outros estudos 36,40,54,63,75 encontraram que a saliva resultou em diminuição nos valores de aderência sobre as superfícies acrílicas e materiais reembasadores. A controvérsia entre resultados pode estar relacionada à complexidade da própria saliva^{40,57,71,80} e às diferentes metodologias utilizadas em cada estudo^{55,79}. Além disso, a característica química das superfícies dos biomateriais também influencia a formação e composição da película adquirida^{40,69,79,80}. Superfícies com pequenas diferenças em suas composições químicas diferem com relação à adsorção de proteínas salivares. No presente estudo, a saliva utilizada para pré-incubar as amostras, foram coletadas de vários doadores, e preparadas com PBS estéril a 50% do volume⁵⁹. Além disso, o procedimento de filtragem não foi realizado, mantendo, dessa forma, uma composição de proteínas com maior peso molecular e presença de microorganismos. O tempo de incubação utilizado foi de 30 minutos, o mesmo descrito por Moura et al.⁴⁰ (2006), à temperatura ambiente, no entanto há estudos que preconizam períodos diferentes de incubação sob agitação. Períodos de tempo superiores de pré-incubação, filtragem da saliva, utilização da saliva sem diluições são alguns dos fatores que podem ocasionar efeitos diferentes da saliva nas superfícies entre vidros e no gesso.

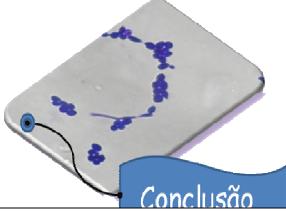
Para avaliar a adesão de *Candida albicans* nos corpos-de-prova, duas técnicas foram utilizadas, o Ensaio de XTT e a Coloração cristal violeta. O ensaio de XTT é amplamente utilizado e reconhecido na literatura^{13,27,59}. Esse teste tem como objetivo estimar a quantidade de células viáveis aderidas aos corpos-de-prova, por meio da respiração celular. A reação química que ocorre, na ausência de luz e à temperatura de 37 °C, é baseada na redução do sal hidróxido 2,3-bi(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamino)carbonil]-2H-tetrazolium, ou degradação do sal tetrazolium, em um composto solúvel de cor alaranjada, formazano, por meio de enzimas da respiração celular fúngica. Essa alteração de cor é lida em espectrofotômetro, com filtro 492nm, como valores de absorbância, e representam a quantidade de células viáveis presentes na amostra.

Observando-se os valores do Ensaio de XTT na superfície obtida em contato com gesso, foi detectada uma redução na adesão de C. albicans para os vernizes M35, P25, P30 e P35 quando comparados ao grupo controle. A diminuição na aderência fúngica apresentada pelo verniz M pode ser atribuída à sua composição química. O verniz M é composto por uma base polimérica de polimetilmetacrilato, adicionada do polímero sulfobetaína. A sulfobetaína é um polímero da classe dos materiais poliméricos zwiteriônicos^{77,81} que apresenta grupos carregados positiva e negativamente, mas com a carga molecular neutra. Os diferentes potenciais elétricos de superfícies desses componentes zwiteriônicos podem contribuir na variação da adesão celular e protéica, por meio da modificação de interações eletrostáticas entre as moléculas biológicas e as superfícies. Considerando-se que as células vivas, incluindo os fungos, possuem carga de superfície negativa, a efetividade do verniz M pode ser atribuída à possível interação eletrostática entre o grupo negativamente carregado da sulfobetaína e a *Candida albicans*. Klotz et al.²⁹ (1985) avaliaram a influência das interações eletrostáticas negativas ao carregarem os fungos positivamente.

Essa carga positiva nos fungos ocasionou alteração do comportamento de aderência, tornando-os, consideravelmente, mais aderentes. Diante disso, os autores concluíram que as interações eletrostáticas repulsivas realmente existem, porque na ausência delas, a aderência é aumentada. Sugere-se que essa pode ser uma explicação para a redução da adesão fúngica apresentada com o verniz M, redução esta que concorda com autores que avaliaram polímeros zwiteriônicos.²³-^{26,32,77}. Além disso, o grupo lateral zwiteriônico proporciona a esse polímero propriedades específicas como alta rigidez na cadeia e uma propriedade antipolieletrolítica, ou seja, capacidade de bloquear os sinais químicos de Na+ e K+ que atraem os micro-organismos. A redução da aderência de *Candida albicans* também apresentada pelo verniz P, pode estar relacionada à sua composição, ou seja, à presença do monômero hidrofilico HPMA (2-3 hidroxipropilmetacrilato). Lewis et al.³² (2001) verificaram também uma redução na aderência de microorganismos e melhoria na biocompatibilidade de polímero cuja composição continha o HPMA. Entretanto, devido às pequenas diferenças encontradas nos valores de ângulos de contato, essa afirmação deve ser vista com cautela. De acordo com os resultados obtidos com a análise do XPS, o verniz P apresenta o grupo fosfato em sua composição. Ainda diante dos resultados obtidos com o Ensaio de XTT, podemos supor que a rugosidade apresentada pelas amostras, obtidas em contato com o gesso, foram importantes para estabelecer o efeito dos vernizes M e P. Além das composições químicas destes vernizes, sugere-se que houve uma possível diminuição da rugosidade superficial após a aplicação dos vernizes. Análises futuras, incluindo a medida da rugosidade superficial após a aplicação dos mesmos, seriam importantes para avaliar sua possível ação de diminuição da rugosidade superficial. Assim, como apontado pelo Ensaio de XTT, pode-se sugerir que, clinicamente, em superfícies polidas, talvez não haja necessidade da aplicação do verniz, ficando restrita apenas à parte interna, em contato com o palato essa necessidade de aplicá-lo. Conforme verificado por Dagistan et al. 16 (2008), a parte interna da prótese possui maior número de microorganismos.

A Coloração cristal violeta foi a segunda técnica selecionada para verificar a adesão de Candida albicans, assim como servir como comparação ao ensaio de XTT. Para a realização desta técnica, a contagem das células aderidas aos corposde-prova foi realizada por meio de fotografias de dez campos selecionados aleatoriamente, em microscopia óptica, sendo então, posteriormente, obtida a contagem de células por mm². A Coloração cristal violeta não detectou a redução da aderência de Candida albicans sobre as superfícies obtidas em contato com gesso, conforme observado para o Ensaio de XTT. Nesta técnica foi observada uma redução para os vernizes M35, P35 e E35 em relação ao controle, em superfícies obtidas entre vidros. Para as superfícies obtidas em contato com o gesso, verificou-se que os vernizes M25, M30 e P30 apresentaram valores menores de aderência quando na presença de saliva. Comparando os dois métodos de obtenção de amostras notou-se que aquelas obtidas em contato com gesso e tratadas com verniz M25 apresentaram valores inferiores quando foi précondicionado com saliva. Analisando-se esses resultados verifica-se que conforme visto para o ensaio de XTT, os vernizes M e P apresentam-se relacionados à redução do número de micro-organismos, no entanto, pelo método de Coloração, as superfícies entre vidros apresentaram menores valores de aderência de Candida quando comparada ao gesso. Entretanto, nenhum grupo apresentou-se menor comparado ao controle. Essa diferença de resultados observada entre o Ensaio de XTT e a Coloração cristal violeta pode ser atribuída ao fato que a contagem celular por meio dessa última é realizada em campos aleatórios escolhidos na região central do corpo-de-prova, portanto, essa técnica, possivelmente, apresenta menor grau de sensibilidade para detectar diferenças em relação ao controle, quando comparada ao Ensaio de XTT. Além disso, as diferenças nos resultados observadas por cada uma das técnicas pode ser explicada pelos princípios de quantificação da aderência fúngica utilizados em cada caso. Enquanto o XTT baseia-se na atividade metabólica de células viáveis disponíveis, a Coloração cristal violeta permite a visualização e contagem de todas as células aderidas nas amostras.

De maneira geral, ambas as técnicas apontam uma redução na adesão de *Candida albicans* para os vernizes M e P. Entretanto, estudos futuros utilizandose valores de rugosidade mais representativos da condição interna das próteses, diversas cepas e espécies de micro-organismos, assim como a introdução de bactérias (responsáveis pelo início do processo de adesão), variação dos parâmetros de coleta e utilização da saliva são análises adicionais importantes para comprovação da efetividade destes vernizes. Além disso, testes de citotoxicidade e genotoxicidade, testes de resistência à escovação, manutenção do efeito antifúngico após ação da saliva por períodos prolongados, são algumas das avaliações sugeridas para viabilizar testes clínicos e sua possível utilização clínica em próteses.



11. Conclusão

De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos, pode-se concluir com o estudo que:

- ✓ Os valores médios de rugosidade para os dois métodos de obtenção dos corpos-de-prova não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados entre os grupos, no entanto foram diferentes quando comparados entre métodos.
- ✓ Para os corpos-de-prova, obtidos entre vidros para a técnica de XTT, e tratados com os vernizes M25, M30 e P35 observou-se a redução do ângulo de contato. Para os corpos-de-prova, obtidos em contato com o gesso para a técnica de XTT, o ângulo de contato foi estatisticamente menor, comparado ao grupo controle, para os corpos-de-prova que receberam uma camada dos vernizes M35, P35 e P25, P30.
- ✓ Os corpos-de-prova obtidos entre vidros, para a técnica de coloração, apresentaram similaridade de resultados entre os vernizes P30, P35 e em relação ao grupo controle. Para aqueles obtidos em contato com o gesso não foi observada nenhuma diferença estatística entre grupos, apenas comparando-se os dois métodos, sendo distintos.
- ✓ O ensaio XTT apresentou maiores valores de absorbância para o grupo controle, obtido em contato com o gesso, sendo verificado que houve redução estatisticamente significante para os vernizes M30, M35 e P30.
- ✓ Nas duas técnicas selecionadas para verificar a adesão de *C. albicans* o pré-condicionamento com saliva não influenciou os resultados obtidos no estudo.
- ✓ Os corpos-de-prova obtidos entre vidros, utilizados na técnica de coloração cristal violeta, apresentaram valores de adesão inferiores ao controle para os vernizes M35, P35 e E35.



12. Referências

- 1. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. Postgrad Med J. 2002; 78: 455-9.
- 2. Andrade JD, Hlady V, Wei AP. Adsorption of complex proteins at interfaces. Pure & Appl Chem. 1992; 64: 1777-81.
- Áxell T, Samaranayake LP, Reichart PA, Olsen I. A proposal for reclassification of oral candidosis. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod. 1997; 84: 111-2.
- 4. Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. Spec Care Dentist. 2001; 21: 4-8.
- Barbeau J, Séguin J, Goulet JP, Koninck L, Avon SL, Lalonde B, et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003; 95: 51-9.
- 6. Barnabé W, de Mendonça Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. J Oral Rehabil. 2004; 31: 453-9.
- 7. Brace ML, Plummer KD. Practical denture disinfection. J Prosthet Dent. 1993; 70: 538-40.
- 8. Budtz-Jörgensen E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. Acta Odontol Scand.1990; 48: 61-9.
- 9. Budtz-Jörgensen E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Acta Odontol Scand. 1990; 48: 37-43.
- 10. Bruinsma GM, Van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. Biomaterials. 2001; 22: 3217-24.

- 11. Çagavi F, Akalan N, Çelik H, Gür D, Güçiz B. Effect of hydrophilic coating on microorganism colonization in silicone tubing. Acta Neurochir. 2004; 146: 603–10.
- 12. Campanha NH, Pavarina AC, Vergani CE, Machado AL. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. J Prosthet Dent. 2005; 93: 483-7.
- 13. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic *in vitro*. J Dent Res. 2001; 80: 903-8.
- 14. Chau, VB Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In depth disinfection of acrylic resins. J Prosthet Dent. 1995; 74: 309-13,
- 15. Coelho CM, Sousa YT, Dare AM. Denture-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. J Oral Rehabil. 2004; 31: 135-9.
- 16. Dagistan S, Aktas AE, Caglayan F, Ayyildiz A, Bilge M. Differential diagnosis of denture-induced stomatitis, *Candida*, and their variations in patients using complete denture: a clinical and mycological study. Mycoses. 2009; 52: 266-71.
- 17. Davenport JC. The denture surface. Br Dent J.1972; 133: 101-5.
- 18. Davenport JC. The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis. Br Dent J. 1970; 129: 151-6.
- 19. Ferreira MAF, Pereira-Cenci T, Vasconcelos LMR, Rodrigues-Garcia RCM, Cury AADB. Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida* species. Clin Oral Investig. 2009; 13: 237-42.
- 20. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. Clin Infect Dis. 1992; 15: 414-21.
- 21. Gonçalves AR, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Linear dimensional changes of denture base and hard chair-side reline resins after disinfection. J Appl Poly Sci. 2006; 102: 1821-6.

- 22. Henriques M, Azeredo J, Oliveira R. Adhesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrylic and hydroxyapatite. Colloids Surf B Biointerfaces. 2004; 33: 235-41.
- 23. Hirota K, Murakami K, Nemoto K, Miyake Y. Coating of a surface with 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) co-polymer significantly reduces retention of human pathogenic microorganisms. FEMS Microbiol Lett. 2005; 248: 37-45.
- 24. Ishihara K, Iwasaki Y, Ebihara S, Shindo Y, Nakabayashi N. Photoinduced graft polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine on polyethylene membrane for obtaining blood cell adhesion resistance. Coll Surf B: Biointerf. 2000; 18: 325-35.
- 25. Ishihara K, Nakabayashi N, Fukumoto K, Aoki J. Improvement of blood compatibility on cellullose dialysis membrane. Biomaterials. 1992; 13: 145-9.
- 26. Ishihara K, Nomura H, Mihara T, Kurita K, Iwasaki Y, Nakabayashi N. Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption? J Biomed Mater Res. 1998; 39: 323-30.
- 27. Jin Y, Samaranayake LP, Samaranayake Y, Yip HK. Biofilm formation of *Candida albicans* is variably affected by saliva and dietary sugars. Arch. Oral Biol. 2004; 49: 789-98.
- 28. Karaagaclioglu L, Can G, Yilmaz B, Ayhan N, Semiz O, Levent H. The adherence of *Candida albicans* to acrylic resin reinforced with different fibers. J Mater Sci: Mater Med. 2008; 19: 959-63.
- 29. Klotz SA, Drutz DJ, Zajic JE. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. Infec Immun. 1985; 50: 97-101.
- 30. Kuhn DM, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum M.A. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. Infec Immun. 2002; 70: 878-8.
- 31. Lamfon H, Porter SR, McCullough M, Pratten J. Formation of *Candida albicans* biofilms on non-shedding oral surfaces. Eur J Oral Sci. 2003; 111: 465-71.

- 32. Lewis AL, Cumming ZL, Goreish HH, Kirkwood LC, Tolhurst LA, Stratford PW. Crosslinkable coatings from phosphorylcholine-based polymers. Biomaterials. 2001; 22: 99-111.
- 33. Lombardi T, Budtz-Jörgensen E. Treatment of denture-induced stomatitis: a review. Eur J Prosthodont Restor Dent. 1993; 2: 17-22.
- 34. Lowe AB, Vamvakaki M, Wassall MA, Wong L, Billingham NC, Armes SP, et al. Well-defined sulfobetaine-based statistical copolymers as potential antibioadherent coatings. J Biomed Mater Res. 2000; 52: 88-94.
- 35. Ma T, Johnson GH, Gordon GE. Effects of chemical disinfectants on the surface characteristics and color of denture resins. J Prosthet Dent. 1997; 77: 197-204.
- 36. McCourtie J, MacFarlane TW, Samaranayake LP. Effect of saliva and serum on the adherence of *Candida* species to chlorhexidine-treated denture acrylic. J Med Microbiol. 1986; 21: 209-13.
- 37. Mima EG, Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Vergani CE, Spolidorio DM, Machado AL. Effect of different exposure times on microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside reline resin. J Prosthodont. 2008; 17: 312-7.
- 38. Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H. Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. Infection and Immunity. 1985; 47: 11-4.
- 39. Monsenego P. Presence of microorganisms on the fitting denture complete surface: study "in vivo". J Oral Rehabil. 2000:27; 708-13.
- 40. Moura JS, Silva WJ, Pereira T, Cury AADB, Garcia RCMR. Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four *Candida species*. J Prosthet Dent. 2006; 96: 205-11.
- 41. Nakabayashi N, Williams DF. Preparation of non-trombogenic materials using 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine. Biomaterials. 2003; 24: 2431-5.

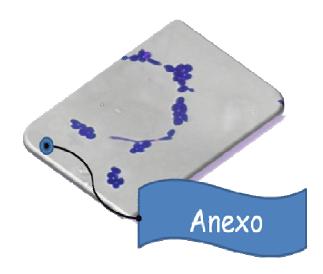
- 42. Nevzatoglu EU, Özcan M, Kulak-Ozkan Y, Kadir T. Adherence of *Candida albicans* to denture base acrylics and silicone-based resilient liner materials with different surface finishes. Clin Oral Invest. 2007; 11: 231-6.
- 43. Nikawa H, Chen J, Hamada T, Nishimura M, Polyzois G. *Candida albicans* colonization on thermal cycled maxillofacial polymeric materials in vitro. J Oral Rehabil. 2001, 28: 526-33.
- 44. Nikawa H, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T, Samaranayake LP. Interactions between denture lining material, protein pellicles and *Candida albicans*. Archs Oral Biol. 1993; 38: 631-4.
- 45. Nikawa H, Jin C, Hamada T, Murata H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part I. Effects on fungal growth. J Oral Rehabil. 2000; 27: 41-5.
- 46. Nikawa H, Jin C, Makihira S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers *in vitro*. J. Oral Rehabil. 2003; 30: 243-50.
- 47. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo MB, Murata H. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against *Candida albicans* growth and/or acid production. J Oral Rehabil. 1997; 24: 350-7.
- 48. Panagoda GJ, Ellepola ANB, Samaranayake LP. Adhesion of *Candida parapsilosis* to epithelial and acrylic surfaces correlates with cell surface hydrophobicity. Mycoses. 2001; 44: 29-35.
- 49. Paranhos HFO, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas-Pontes KM, Watanabe E et al. Effect of three methods for cleaning dentures on biofilms formed in vitro on acrylic resin. J Prosthodont. 2009; 1-5 [Epub ahead of print].
- 50. Park SE, Periathamby AR, Loza JC. Effect of surface-charged poly(methylmethacrylate) on the adhesion of *Candida albicans*. J Prosthodont. 2003; 12: 249-54.

- 51. Patel JD, Iwasaki Y, Ishihara K, Anderson JM. Phospholipid polymer surfaces reduce bacteria and leukocyte adhesion under dynamic flow conditions. J Biomed Mater Res. Part A. 2005; 73: 359–66.
- 52. Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Guinesi AS, Vergani CE, Machado AL, Giampaolo ET. Effect of microwave disinfection on the flexural strength of hard chairside reline resins. J Dent. 2005; 33: 741-8.
- 53. Pavarina AC, Pizzollitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. J. Oral Rehabil. 2003; 30: 532-6.
- 54. Pereira-Cenci T, Cury AADB, Cenci MS, Rodrigues-Garcia RCM. In vitro *Candida* colonization on acrylic resins and denture liners: influence of surface free energy, roughness, saliva, and adhering bacteria. Int J Prosthodont. 2007; 20: 308-10.
- 55. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. J Appl Oral Sci. 2008; 16: 86-94.
- 56. Polyzois GL, Zissis AJ, Yannikakis SA. The effect of glutaraldehyde and microwave disinfection on some properties of acrylic denture resin. Int J Prosthodont. 1995; 8: 150-4.
- 57. Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials *in vivo* and *in vitro*. Crit Rev Oral Biol Med. 1999; 10: 99-116.
- 58. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SH, Walter JD. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. J Dent. 1998; 26: 577-83.
- 59. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: A role for *Candida* biofilms. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004; 98:53-9.
- 60. Rangel EC, Gadioli GZ, Cruz NC. Investigations on the stability of plasma modified silicone surfaces. Plasmas and Polymers. 2004; 9: 35-48.

- 61. Ribeiro DG, Pavarina AC, Machado AL, Giampaolo ET, Vergani CE. Flexural strength and hardness of reline and denture base acrylic resins after different exposure times of microwave disinfection. Quintessence Int. 2008; 39: 833-40.
- 62. Sagripanti JL, Bonifacino A. Citotoxicity of liquid disinfectants. Surg Infect. 2000; 1: 3-14.
- 63. Samaranayake LP, McCourtie J, MacFarlane TW. Factors affecting the invitro adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. Archs Oral Biol. 1980; 25: 611-5.
- 64. San Millán R, Elguezabal N, Regúlez P, Moragues MD, Quindós G, Pontón J. Effect of salivary secretory IgA on the adhesion of *Candida albicans* to polysterene. Microbiology, 2000; 146: 2105-12.
- 65. Santarpia RP, <u>Pollock JJ</u>, <u>Renner RP</u>, <u>Spiechowicz E</u>. An in vivo replica method for the site-specific detection of *Candida albicans* on the denture surface in denture stomatitis patients: correlation with clinical disease. J Prosthet Dent. 1990; 63: 437-43.
- 66. Sesma N, Laganá DC, Morimoto S, Gil C. Effect of denture surface glazing on denture plaque formation. Braz Dent J. 2005; 16: 129-134.
- 67. Sheridan PJ, Koda S, Ewoldsen NO, Lefebvre CA, Lavin MT. Cytotoxicity of denture base resins. Int. J. Prosthodont 1997; 10: 73-7.
- 68. Silva W.J., Seneviratne J, Parahitiyawa N., Rosa EA, Samaranayake LP, Del Bel Cury AA. Improvement of XTT assay performance for studies involving *Candida albicans* biofilms. Braz Dent J. 2008; 19: 364-69.
- 69. Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. J Dent. 2001; 29: 197-204.
- 70. Suanpoot P, Kueseng K, Ortmann S, Kaufmann R, Umongno C, Nimmanpipug P, et al. Surface analysis of hydrophobicity of Thai silk treated by SF_6 plasma. Surf & Coat Tech. 2008; 202:5543-9.

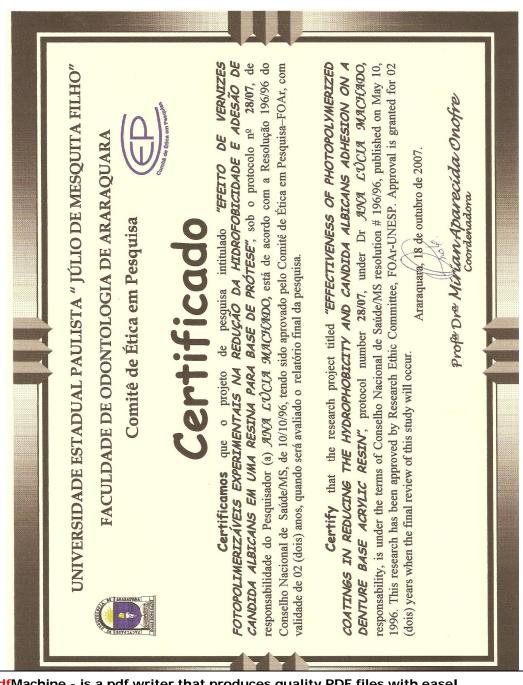
- 71. Tanida T, Ueta E, Tobiume A, Hamada T, Rao F, Osaki T. Influence of aging on candidal growth and adhesion regulatory agents in saliva. J Oral Pathol Med. 2001; 30: 328-35.
- 72. Tari BF, Nalbant D, Al DF, Kustimur S. Surface roughness and adherence of *Candida albicans* on soft lining materials as influenced by accelerated aging. J Contemp Dent Pract. 2007; 8: 1-11.
- 73. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Characteristics of dual species *Candida* biofilms on denture acrylic surfaces. Arch Oral Biol. 2007; 52: 1200-8.
- 74. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. J Prosthet Dent. 1997; 77: 535-9.
- 75. Waters MGJ, Williams DW, Jagger RG, Lewis MAO. Adherence of *Candida albicans* to experimental denture soft lining materials. J Prosthet Dent. 1997; 77: 306-12.
- 76. Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. Gerodontology. 2005; 22: 168-6
- 77. West SL, Salvage JP, Lobb EJ, Armes SP, Billingham NC, Lewis AL. The biocompatibility of crosslinkable copolymer coatings containing sulfobetaines and phosphobetaines. Biomaterials. 2004; 25:1195-204.
- 78. Wilson J. The etiology, diagnosis and management of denture stomatitis. Br Dent J. 1998; 185: 380-4.
- 79. Yildirim MS, Hasanreisoglu U, Hasirci N, Sultan N. Adherence of *Candida albicans* to glow-discharge modified acrylic denture base polymers. J. Oral Rehabil. 2005; 32: 518-25.
- 80. Yildirim MS, Kesimer M, Hasirci N, Kiliç N, Hasanreisoglu U. Adsorption of human salivary mucin MG1 onto glow-discarge plasma treated acrylic resin surfaces. J Oral Rehabil. 2006; 775-83.
- 81. Yuan J, Zhang J, Zhu J, Shen J, Lin SC, Zhu W, et al. Reduced platelet adhesion on the surface of polyurethane bearing structure of sulfobetaine. J Biomater Appl. 2003; 18: 123-35.

82. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. Int J Prosthodont. 2000; 13: 136-40.



Anexo A

Certificado emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOAr – protocolo nº 28/07.



pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease!

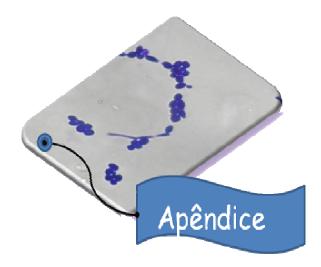
Get yours now!

ANEXO B

Termo de livre consentimento livre e esclarecido aplicado aos voluntários na doação de saliva.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu,	RG	, residente à rua
	,anos,	
Aluno(4	° ano da graduação ou Pós-gra	duação) da Faculdade de
Odontologia de Araraquara - UNESP, aceito I	participar voluntariamente da peso	quisa intitulada "Efeito de
vernizes fotopolimerizáveis experimentais na	redução da hidrofobicidade e ac	desão de Candida albicans
em uma resina para base de prótese " e, que	estão sob a responsabilidade da Pi	rofa. em questão e tem por
objetivo testar diferentes vernizes experimenta	ais de superfície na prevenção ou	diminuição da adesão de
Candida albicans em uma resina para base	de prótese. Eu participarei volun	tariamente dessa pesquisa
restringindo-me à doação de saliva não estima	ulada, que será coletada em frasc	os estéreis, descartáveis e
individuais. Estou ciente, portanto, que não ha	verá riscos ou benefícios relaciona	idos a minha saúde. Eu fu
informado pelos pesquisadores que a coleta de	e saliva (10 mL) será realizada no	período da manhã após o
desjejum e realização da higiene oral. Caso eu	esteja com infecção orofaríngea ((dor de garganta), gripe ou
algum tipo de doença infecto-contagiosa serei d	lispensado da pesquisa. Eu fui info	rmado que deverei dizer ac
pesquisador no ato da coleta se estou utilizan-	do algum medicamento que possa	alterar as propriedades da
minha saliva (antibiótico, antidepressivo, antiir	nflamatório, etc). Se eu tiver qua	alquer dúvida em relação à
pesquisa poderei esclarecê-la a qualquer momen	nto questionando o pesquisador. Eu	declaro estar ciente de que
posso deixar de participar dessa pesquisa a qua	lquer momento sem nenhum tipo o	de prejuízo a minha pessoa
em relação ao atendimento e/ou tratamentos fut	turos de que eu possa precisar junto	o à equipe da Faculdade de
Odontologia de Araraquara – UNESP.		
A minha identidade será mantida em	sigilo assim como todas as informa	ações relacionadas à minha
pessoa, zelando pela minha privacidade, inclusiv	ve na publicação dos artigos resulta	intes dessa pesquisa.
Caso eu tenha alguma pergunta a se	r esclarecida deverei entrar em co	ontato pelo telefone com a
pesquisadora ou com o Comitê de Ética em Pes	squisa para obter maiores informaç	ções ou reclamações – tels
(16) 3301-6432 ou (16) 3301- 6434.		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL	VOLUNTÁR	Ю
	A	J.



Apêndice 1

Tabela 1A – Composição (em milimol) dos vernizes experimentais.

Vernizes				Comp	onentes			
(Códigos)	MMA	AL1	AL2	MPB	MH1	MH2	МН3	MZ
E25	61,0	5,0	6,0	3,0	25,0			
E30	56,0	5,0	6,0	3,0	30,0			
E35	51,0	5,0	6,0	3,0	35,0			
P25	61,0	5,0	6,0	3,0		25,0		
P30	56,0	5,0	6,0	3,0		30,0		
P35	51,0	5,0	6,0	3,0		35,0		
T25	61,0	5,0	6,0	3,0			25,0	
T30	56,0	5,0	6,0	3,0			30,0	
T35	51,0	5,0	6,0	3,0			35,0	
M25	61,0	5,0	6,0	3,0				25,0
M30	56,0	5,0	6,0	3,0				30,0
M35	51,0	5,0	6,0	3,0				35,0

Apêndice 2 Dados originais referentes ao Ensaio de XTT

Tabela 1A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova do **grupo controle** processados entre vidros

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
Controle	Vidro	Ausente	0,22	64,90	0,482
Controle	Vidro	Ausente	0,34	70,20	0,910
Controle	Vidro	Ausente	0,15	54,60	0,970
Controle	Vidro	Ausente	0,19	67,00	0,434
Controle	Vidro	Ausente	0,20	80,00	0,650
Controle	Vidro	Ausente	0,23	60,00	0,486
Controle	Vidro	Ausente	0,11	62,30	0,490
Controle	Vidro	Ausente	0,09	73,00	0,539
Controle	Vidro	Ausente	0,14	65,20	0,905
Controle	Vidro	Presente	0,17	59,90	1,086
Controle	Vidro	Presente	0,22	61,00	0,924
Controle	Vidro	Presente	0,12	65,90	0,780
Controle	Vidro	Presente	0,14	66,40	0,853
Controle	Vidro	Presente	0,28	62,80	1,082
Controle	Vidro	Presente	0,25	64,30	1,140
Controle	Vidro	Presente	0,10	67,50	0,914
Controle	Vidro	Presente	0,30	62,10	1,078
Controle	Vidro	Presente	0,29	58,40	1,231

Tabela 2A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz M25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
	_				
M25	Vidro	Ausente	0,25	72,00	0,833
M25	Vidro	Ausente	0,20	54,30	0,921
M25	Vidro	Ausente	0,16	55,90	0,856
M25	Vidro	Ausente	0,13	61,43	0,725
M25	Vidro	Ausente	0,28	60,50	1,214
M25	Vidro	Ausente	0,07	58,08	0,999
M25	Vidro	Ausente	0,09	63,40	0,665
M25	Vidro	Ausente	0,25	67,90	0,743
M25	Vidro	Ausente	0,22	65,20	0,723
M25	Vidro	Presente	0,08	66,60	1,400
M25	Vidro	Presente	0,11	63,40	0,963
M25	Vidro	Presente	0,21	53,50	0,942
M25	Vidro	Presente	0,26	62,40	1,003
M25	Vidro	Presente	0,27	57,80	1,303
M25	Vidro	Presente	0,06	50,70	0,751
M25	Vidro	Presente	0,09	61,30	0,851
M25	Vidro	Presente	0,13	60,00	0,924
M25	Vidro	Presente	0,15	69,20	0,867

Tabela 3A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz M30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
M30	Vidro	Ausente	0,30	59,50	0,693
M30	Vidro	Ausente	0,25	71,30	0,871
M30	Vidro	Ausente	0,27	58,90	1,335
M30	Vidro	Ausente	0,05	60,80	0,449
M30	Vidro	Ausente	0,10	61,50	0,537
M30	Vidro	Ausente	0,12	66,00	0,747
M30	Vidro	Ausente	0,17	69,00	0,494
M30	Vidro	Ausente	0,23	63,50	0,615
M30	Vidro	Ausente	0,22	67,80	0,989
M30	Vidro	Presente	0,30	74,30	0,913
M30	Vidro	Presente	0,27	62,30	0,840
M30	Vidro	Presente	0,29	57,98	0,909
M30	Vidro	Presente	0,08	64,67	1,227
M30	Vidro	Presente	0,09	63,45	0,977
M30	Vidro	Presente	0,14	58,43	1,632
M30	Vidro	Presente	0,23	58,17	0,481
M30	Vidro	Presente	0,05	63,42	0,814
M30	Vidro	Presente	0,23	69,23	0,873

Tabela 4A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz M35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
	_		• •		
M35	Vidro	Ausente	0,15	58,70	0,642
M35	Vidro	Ausente	0,21	63,90	0,638
M35	Vidro	Ausente	0,23	64,80	0,801
M35	Vidro	Ausente	0,19	67,30	0,574
M35	Vidro	Ausente	0,24	65,80	0,581
M35	Vidro	Ausente	0,23	54,00	0,908
M35	Vidro	Ausente	0,23	73,80	0,969
M35	Vidro	Ausente	0,08	78,30	1,004
M35	Vidro	Ausente	0,27	56,70	1,142
M35	Vidro	Presente	0,30	55,30	1,122
M35	Vidro	Presente	0,18	58,50	1,417
M35	Vidro	Presente	0,07	64,00	1,284
M35	Vidro	Presente	0,05	60,40	0,827
M35	Vidro	Presente	0,09	65,70	0,974
M35	Vidro	Presente	0,15	70,20	0,755
M35	Vidro	Presente	0,21	63,30	0,750
M35	Vidro	Presente	0,25	72,90	0,635
M35	Vidro	Presente	0,19	44,30	0,572

Tabela 5A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz P25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
P25	Vidro	Ausente	0,13	55,90	0,733
P25	Vidro	Ausente	0,29	53,80	0,789
P25	Vidro	Ausente	0,24	57,90	0,792
P25	Vidro	Ausente	0,21	65,10	0,676
P25	Vidro	Ausente	0,17	63,50	0,558
P25	Vidro	Ausente	0,10	59,08	1,099
P25	Vidro	Ausente	0,07	70,11	0,769
P25	Vidro	Ausente	0,04	79,50	0,512
P25	Vidro	Ausente	0,22	64,70	0,881
P25	Vidro	Presente	0,03	66,90	1,165
P25	Vidro	Presente	0,16	64,50	1,145
P25	Vidro	Presente	0,19	59,90	0,972
P25	Vidro	Presente	0,24	64,60	1,529
P25	Vidro	Presente	0,26	76,50	1,367
P25	Vidro	Presente	0,29	76,70	1,181
P25	Vidro	Presente	0,06	58,60	0,807
P25	Vidro	Presente	0,05	61,00	0,46
P25	Vidro	Presente	0,08	64,80	0,538

Tabela 6A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz P30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
P30	Vidro	Ausente	0,21	65,44	0,950
P30	Vidro	Ausente	0,29	67,98	0,689
P30	Vidro	Ausente	0,22	79,53	0,46
P30	Vidro	Ausente	0,24	56,80	0,591
P30	Vidro	Ausente	0,16	76,00	0,503
P30	Vidro	Ausente	0,11	59,80	0,908
P30	Vidro	Ausente	0,06	65,00	0,428
P30	Vidro	Ausente	0,27	64,00	0,763
P30	Vidro	Ausente	0,25	66,89	0,400
P30	Vidro	Presente	0,09	59,78	0,873
P30	Vidro	Presente	0,04	63,56	0,929
P30	Vidro	Presente	0,16	67,49	1,066
P30	Vidro	Presente	0,15	75,54	0,900
P30	Vidro	Presente	0,29	78,65	1,545
P30	Vidro	Presente	0,28	54,00	0,867
P30	Vidro	Presente	0,23	63,50	0,502
P30	Vidro	Presente	0,3	56,78	0,801
P30	Vidro	Presente	0,26	56,00	0,673

Tabela 7A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz P35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
P35	Vidro	Ausente	0,15	65,30	0,659
P35	Vidro	Ausente	0,23	64,80	0,612
P35	Vidro	Ausente	0,30	58,62	0,848
P35	Vidro	Ausente	0,22	67,44	0,625
P35	Vidro	Ausente	0,30	56,70	0,966
P35	Vidro	Ausente	0,26	54,56	0,568
P35	Vidro	Ausente	0,27	59,78	1,031
P35	Vidro	Ausente	0,18	64,30	1,004
P35	Vidro	Ausente	0,29	76,89	0,308
P35	Vidro	Presente	0,21	48,90	1,090
P35	Vidro	Presente	0,22	58,30	1,242
P35	Vidro	Presente	0,19	62,70	1,464
P35	Vidro	Presente	0,24	67,40	0,624
P35	Vidro	Presente	0,11	66,90	1,004
P35	Vidro	Presente	0,09	64,90	1,040
P35	Vidro	Presente	0,28	70,50	0,780
P35	Vidro	Presente	0,24	76,80	0,762
P35	Vidro	Presente	0,30	56,78	0,614

Tabela 8A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz E25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
E25	Vidro	Ausente	0,28	71,00	0,567
E25	Vidro	Ausente	0,13	77,43	0,774
E25	Vidro	Ausente	0,24	68,45	0,910
E25	Vidro	Ausente	0,14	64,98	0,451
E25	Vidro	Ausente	0,26	71,20	1,033
E25	Vidro	Ausente	0,2	75,00	0,758
E25	Vidro	Ausente	0,26	74,89	0,890
E25	Vidro	Ausente	0,3	67,30	0,850
E25	Vidro	Ausente	0,18	67,00	0,552
E25	Vidro	Presente	0,23	70,70	1,238
E25	Vidro	Presente	0,25	71,90	0,964
E25	Vidro	Presente	0,29	70,86	1,263
E25	Vidro	Presente	0,18	75,50	0,904
E25	Vidro	Presente	0,15	73,20	0,562
E25	Vidro	Presente	0,25	82,00	1,313
E25	Vidro	Presente	0,28	74,50	0,687
E25	Vidro	Presente	0,17	71,20	0,633
E25	Vidro	Presente	0,28	67,80	0,605

Tabela 9A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz E30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
E30	Vidro	Ausente	0,25	66,50	0,553
E30	Vidro	Ausente	0,22	69,00	0,663
E30	Vidro	Ausente	0,15	75,40	0,772
E30	Vidro	Ausente	0,14	78,30	1,017
E30	Vidro	Ausente	0,06	71,80	0,608
E30	Vidro	Ausente	0,13	71,60	0,565
E30	Vidro	Ausente	0,3	63,00	0,926
E30	Vidro	Ausente	0,18	64,50	0,868
E30	Vidro	Ausente	0,15	67,60	0,927
E30	Vidro	Presente	0,3	67,30	0,962
E30	Vidro	Presente	0,12	61,90	0,905
E30	Vidro	Presente	0,13	60,10	1,328
E30	Vidro	Presente	0,26	80,60	0,584
E30	Vidro	Presente	0,12	85,40	1,074
E30	Vidro	Presente	0,07	78,60	0,845
E30	Vidro	Presente	0,08	74,00	0,748
E30	Vidro	Presente	0,27	74,80	0,723
E30	Vidro	Presente	0,12	70,30	1,057

Tabela 10A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz E35**

Cwana	1 1		Dugasidada (um)		
Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
E35	Vidro	Ausente	0,27	69,60	0,338
E35	Vidro	Ausente	0,13	75,90	0,583
E35	Vidro	Ausente	0,18	71,20	0,799
E35	Vidro	Ausente	0,21	60,90	0,327
E35	Vidro	Ausente	0,24	63,40	0,789
E35	Vidro	Ausente	0,17	67,80	0,752
E35	Vidro	Ausente	0,21	76,00	1,212
E35	Vidro	Ausente	0,19	75,30	0,892
E35	Vidro	Ausente	0,22	71,20	1,065
E35	Vidro	Presente	0,05	75,40	1,248
E35	Vidro	Presente	0,06	65,10	1,205
E35	Vidro	Presente	0,23	60,00	1,466
E35	Vidro	Presente	0,12	60,90	0,819
E35	Vidro	Presente	0,15	75,60	0,552
E35	Vidro	Presente	0,18	75,40	1,045
E35	Vidro	Presente	0,27	77,50	0,599
E35	Vidro	Presente	0,19	78,90	0,627
E35	Vidro	Presente	0,04	78,20	0,656

Tabela 11A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz T25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
T25	Vidro	Ausente	0,35	73,40	0,759
T25	Vidro	Ausente	0,23	72,20	0,646
T25	Vidro	Ausente	0,07	66,60	0,811
T25	Vidro	Ausente	0,12	78,50	1,043
T25	Vidro	Ausente	0,04	65,50	1,221
T25	Vidro	Ausente	0,3	71,00	1,037
T25	Vidro	Ausente	0,13	70,80	0,717
T25	Vidro	Ausente	0,17	70,20	1,020
T25	Vidro	Ausente	0,16	69,90	0,804
T25	Vidro	Presente	0,04	68,70	1,176
T25	Vidro	Presente	0,14	65,40	1,443
T25	Vidro	Presente	0,39	60,80	1,251
T25	Vidro	Presente	0,18	59,50	1,035
T25	Vidro	Presente	0,24	72,40	0,951
T25	Vidro	Presente	0,3	77,30	1,655
T25	Vidro	Presente	0,15	69,00	0,639
T25	Vidro	Presente	0,08	70,20	0,581
T25	Vidro	Presente	0,15	78,50	0,596

Tabela 12A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz T30**

<u> </u>	1 1		D		
Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
T30	Vidro	Ausente	0,1	72,20	0,588
T30	Vidro	Ausente	0,3	71,00	0,423
T30	Vidro	Ausente	0,24	68,00	0,849
T30	Vidro	Ausente	0,21	69,40	0,479
T30	Vidro	Ausente	0,17	75,40	0,385
T30	Vidro	Ausente	0,13	73,00	0,896
T30	Vidro	Ausente	0,14	67,80	0,866
T30	Vidro	Ausente	0,09	63,70	1,138
T30	Vidro	Ausente	0,21	60,60	0,979
T30	Vidro	Presente	0,17	63,50	1,316
T30	Vidro	Presente	0,21	68,30	1,084
T30	Vidro	Presente	0,13	76,00	1,011
T30	Vidro	Presente	0,02	68,70	1,166
T30	Vidro	Presente	0,06	69,00	0,964
T30	Vidro	Presente	0,14	65,90	1,413
T30	Vidro	Presente	0,12	69,80	0,409
T30	Vidro	Presente	0,17	70,20	0,736
T30	Vidro	Presente	0,08	76,00	0,632

Tabela 13A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados entre vidros e tratados com **verniz T35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
T35	Vidro	Ausente	0,16	79,40	0,871
T35	Vidro	Ausente	0,12	66,70	0,770
T35	Vidro	Ausente	0,08	78,00	0,801
T35	Vidro	Ausente	0,05	76,50	0,591
T35	Vidro	Ausente	0,23	69,80	0,766
T35	Vidro	Ausente	0,13	70,20	0,675
T35	Vidro	Ausente	0,17	61,50	1,050
T35	Vidro	Ausente	0,07	70,90	0,825
T35	Vidro	Ausente	0,26	74,30	1,038
T35	Vidro	Presente	0,22	76,20	1,143
T35	Vidro	Presente	0,30	73,00	1,117
T35	Vidro	Presente	0,06	76,30	1,189
T35	Vidro	Presente	0,20	76,50	0,490
T35	Vidro	Presente	0,28	72,00	0,964
T35	Vidro	Presente	0,18	68,70	1,636
T35	Vidro	Presente	0,13	66,40	0,451
T35	Vidro	Presente	0,18	69,80	0,571
T35	Vidro	Presente	0,26	60,49	0,775

Tabela 14A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova do **grupo controle** processados em contato com o gesso

		-			-
Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
Controle	Gesso	Ausente	1,94	67,00	1,579
Controle	Gesso	Ausente	2,03	73,70	1,619
Controle	Gesso	Ausente	1,11	70,90	1,438
Controle	Gesso	Ausente	1,45	71,20	1,740
Controle	Gesso	Ausente	1,32	76,40	0,631
Controle	Gesso	Ausente	1,98	64,50	0,858
Controle	Gesso	Ausente	2,06	63,90	0,973
Controle	Gesso	Ausente	2,13	65,20	0,593
Controle	Gesso	Ausente	1,87	68,90	1,225
Controle	Gesso	Presente	1,56	75,50	1,189
Controle	Gesso	Presente	1,23	79,80	1,052
Controle	Gesso	Presente	1,83	65,30	1,174
Controle	Gesso	Presente	2,11	65,90	1,334
Controle	Gesso	Presente	3,25	63,67	1,536
Controle	Gesso	Presente	2,08	65,40	1,517
Controle	Gesso	Presente	2,22	76,00	1,604
Controle	Gesso	Presente	2,34	72,90	1,407
Controle	Gesso	Presente	2,56	77,90	1,328

Tabela 15A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz M25**

	11123				
Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
M25	Gesso	Ausente	3,35	75,00	1,023
M25	Gesso	Ausente	3,29	68,80	1,053
M25	Gesso	Ausente	2,67	66,70	0,921
M25	Gesso	Ausente	2,73	63,20	1,129
M25	Gesso	Ausente	1,23	59,00	0,863
M25	Gesso	Ausente	1,03	68,80	0,624
M25	Gesso	Ausente	1,28	72,40	0,460
M25	Gesso	Ausente	1,87	67,65	0,961
M25	Gesso	Ausente	0,89	67,43	0,942
M25	Gesso	Presente	1,27	66,45	0,821
M25	Gesso	Presente	2,23	71,60	0,657
M25	Gesso	Presente	2,56	67,80	0,831
M25	Gesso	Presente	2,04	70,90	2,016
M25	Gesso	Presente	2,65	64,00	1,515
M25	Gesso	Presente	2,35	61,00	1,179
M25	Gesso	Presente	3,26	65,47	0,829
M25	Gesso	Presente	2,1	65,87	1,415
M25	Gesso	Presente	1,45	64,66	0,867

Tabela 16A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz M30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
M30	Gesso	Ausente	1,76	65,90	0,716
M30	Gesso	Ausente	1,29	72,25	0,625
M30	Gesso	Ausente	3,03	71,80	0,757
M30	Gesso	Ausente	3,41	68,50	0,649
M30	Gesso	Ausente	2,22	63,50	0,602
M30	Gesso	Ausente	2,84	65,66	0,559
M30	Gesso	Ausente	2,07	63,70	0,813
M30	Gesso	Ausente	2,65	69,80	0,697
M30	Gesso	Ausente	1,99	70,50	0,610
M30	Gesso	Presente	1,28	64,60	0,722
M30	Gesso	Presente	1,36	62,40	0,807
M30	Gesso	Presente	2,56	57,80	0,749
M30	Gesso	Presente	2,87	68,51	1,337
M30	Gesso	Presente	1,9	64,80	1,695
M30	Gesso	Presente	3,13	72,30	1,155
M30	Gesso	Presente	3,11	76,80	0,914
M30	Gesso	Presente	2,35	66,24	0,718
M30	Gesso	Presente	1,33	70,11	0,913

Tabela 17A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz M35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
M35	Gesso	Ausente	2,73	35,26	0,981
M35	Gesso	Ausente	1,37	52,10	0,537
M35	Gesso	Ausente	3,1	58,62	0,839
M35	Gesso	Ausente	2,86	37,26	0,415
M35	Gesso	Ausente	2,17	46,71	0,427
M35	Gesso	Ausente	2,49	44,27	0,376
M35	Gesso	Ausente	2,13	56,08	0,714
M35	Gesso	Ausente	1,28	48,51	0,623
M35	Gesso	Ausente	1,43	34,62	0,485
M35	Gesso	Presente	1,06	35,26	0,939
M35	Gesso	Presente	1,11	52,10	0,622
M35	Gesso	Presente	3,16	58,62	0,692
M35	Gesso	Presente	1,19	37,26	1,821
M35	Gesso	Presente	1,25	46,71	1,630
M35	Gesso	Presente	2,34	44,27	1,654
M35	Gesso	Presente	2,47	56,08	1,038
M35	Gesso	Presente	1,83	48,51	1,022
M35	Gesso	Presente	1,19	34,62	0,765

Tabela 18A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz P25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
P25	Gesso	Ausente	1,82	56,33	1,122
P25	Gesso	Ausente	2,08	56,65	0,897
P25	Gesso	Ausente	2,41	47,95	0,662
P25	Gesso	Ausente	3,23	55,36	1,040
P25	Gesso	Ausente	2,04	59,09	0,466
P25	Gesso	Ausente	1,33	58,08	0,520
P25	Gesso	Ausente	1,71	60,85	0,804
P25	Gesso	Ausente	2,22	55,47	0,446
P25	Gesso	Ausente	1,95	63,77	0,865
P25	Gesso	Presente	1,18	56,33	0,760
P25	Gesso	Presente	2,65	56,33	0,802
P25	Gesso	Presente	1,94	56,65	0,709
P25	Gesso	Presente	2,24	47,95	1,318
P25	Gesso	Presente	2,57	55,36	1,282
P25	Gesso	Presente	2,96	59,09	0,893
P25	Gesso	Presente	1,39	58,08	1,298
P25	Gesso	Presente	2,06	60,85	1,189
P25	Gesso	Presente	2,23	55,47	1,162

Tabela 19A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz P30**

	100				
<u>Grupo</u>	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
P30	Gesso	Ausente	1,45	63,77	0,718
P30	Gesso	Ausente	1,17	54,59	0,729
P30	Gesso	Ausente	2,23	62,25	0,582
P30	Gesso	Ausente	1,34	47,95	0,739
P30	Gesso	Ausente	0,87	58,51	0,941
P30	Gesso	Ausente	1,07	53,46	0,824
P30	Gesso	Ausente	2,35	45,66	0,399
P30	Gesso	Ausente	2,57	52,17	0,497
P30	Gesso	Ausente	2,77	66,24	0,706
P30	Gesso	Presente	3,11	54,59	0,792
P30	Gesso	Presente	2,13	62,25	0,587
P30	Gesso	Presente	1,93	47,95	0,625
P30	Gesso	Presente	2,33	58,51	1,454
P30	Gesso	Presente	3,05	53,46	1,067
P30	Gesso	Presente	2,93	45,66	1,122
P30	Gesso	Presente	2,08	52,17	1,349
P30	Gesso	Presente	1,55	66,24	0,935
P30	Gesso	Presente	2,02	70,11	1,254

Tabela 20A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz P35**

	100				
<u>Grupo</u>	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
P35	Gesso	Ausente	1,47	35,26	0,911
P35	Gesso	Ausente	2,00	52,10	0,780
P35	Gesso	Ausente	1,09	58,62	0,908
P35	Gesso	Ausente	1,74	37,26	0,631
P35	Gesso	Ausente	1,32	46,71	0,749
P35	Gesso	Ausente	1,44	44,27	0,992
P35	Gesso	Ausente	2,83	56,08	0,988
P35	Gesso	Ausente	2,12	48,51	0,929
P35	Gesso	Ausente	1,39	34,62	0,719
P35	Gesso	Presente	1,76	35,26	0,717
P35	Gesso	Presente	2,3	52,10	0,718
P35	Gesso	Presente	2,54	58,62	0,974
P35	Gesso	Presente	2,09	37,26	1,217
P35	Gesso	Presente	1,45	46,71	0,907
P35	Gesso	Presente	2,17	44,27	1,766
P35	Gesso	Presente	1,34	67,30	1,603
P35	Gesso	Presente	1,14	68,70	1,191
P35	Gesso	Presente	0,96	73,20	1,519

Tabela 21A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz E25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
E25	Gesso	Ausente	1,13	71,00	0,870
E25	Gesso	Ausente	2,17	64,70	0,760
E25	Gesso	Ausente	1,79	63,90	0,840
E25	Gesso	Ausente	1,32	76,40	0,735
E25	Gesso	Ausente	2,07	70,70	0,410
E25	Gesso	Ausente	2,24	62,40	0,437
E25	Gesso	Ausente	1,73	68,40	0,863
E25	Gesso	Ausente	1,56	63,90	0,639
E25	Gesso	Ausente	1,78	63,40	0,635
E25	Gesso	Presente	2,14	65,40	0,853
E25	Gesso	Presente	2,86	76,89	0,966
E25	Gesso	Presente	2,56	66,43	1,112
E25	Gesso	Presente	1,11	67,57	1,397
E25	Gesso	Presente	1,26	73,30	1,125
E25	Gesso	Presente	2,07	70,90	1,115
E25	Gesso	Presente	1,49	65,90	0,971
E25	Gesso	Presente	0,67	65,30	1,211
E25	Gesso	Presente	2,09	70,60	1,326

Tabela 22A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz E30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
E30	Gesso	Ausente	0,55	71,00	0,845
E30	Gesso	Ausente	2,13	65,9	0,750
E30	Gesso	Ausente	1,55	79,30	0,870
E30	Gesso	Ausente	2,41	74,50	0,799
E30	Gesso	Ausente	2,22	78,60	0,756
E30	Gesso	Ausente	1,15	72,30	0,819
E30	Gesso	Ausente	3,06	76,00	0,460
E30	Gesso	Ausente	1,28	64,80	1,190
E30	Gesso	Ausente	1,54	76,40	0,605
E30	Gesso	Presente	2,43	80,00	0,806
E30	Gesso	Presente	2,99	66,40	0,996
E30	Gesso	Presente	3,11	69,50	0,908
E30	Gesso	Presente	2,67	70,00	1,503
E30	Gesso	Presente	1,12	75,40	1,481
E30	Gesso	Presente	1,44	77,80	1,421
E30	Gesso	Presente	2,09	67,30	1,441
E30	Gesso	Presente	1,27	76,80	1,499
E30	Gesso	Presente	1,12	78,20	1,363

Tabela 23A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz** E35

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
E35	Gesso	Ausente	2,24	81,70	0,928
E35	Gesso	Ausente	2,6	75,70	0,950
E35	Gesso	Ausente	2,89	85,50	0,936
E35	Gesso	Ausente	2,61	84,20	1,611
E35	Gesso	Ausente	1,42	76,00	0,620
E35	Gesso	Ausente	1,09	67,10	0,729
E35	Gesso	Ausente	2,67	62,59	0,497
E35	Gesso	Ausente	2,96	65,40	1,022
E35	Gesso	Ausente	2,34	70,00	0,696
E35	Gesso	Presente	1,65	66,80	0,916
E35	Gesso	Presente	1,2	65,80	1,010
E35	Gesso	Presente	1,86	70,70	0,973
E35	Gesso	Presente	2,13	74,20	1,260
E35	Gesso	Presente	2,03	71,90	1,474
E35	Gesso	Presente	2,85	73,40	1,442
E35	Gesso	Presente	2,26	72,20	1,266
E35	Gesso	Presente	1,29	61,00	1,535
E35	Gesso	Presente	1,54	76,50	1,740

Tabela 24A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz T25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
T25	Gesso	Ausente	3,42	80,10	1,002
T25	Gesso	Ausente	3,22	76,80	1,015
T25	Gesso	Ausente	2,98	66,30	1,078
T25	Gesso	Ausente	1,37	78,70	0,911
T25	Gesso	Ausente	2,12	56,00	0,866
T25	Gesso	Ausente	0,98	59,40	0,906
T25	Gesso	Ausente	2,56	65,00	0,99
T25	Gesso	Ausente	2,37	63,40	1,105
T25	Gesso	Ausente	2,27	56,44	0,934
T25	Gesso	Presente	1,09	57,09	1,259
T25	Gesso	Presente	1,17	66,80	1,099
T25	Gesso	Presente	1,32	62,28	1,071
T25	Gesso	Presente	0,9	78,20	1,657
T25	Gesso	Presente	1,54	71,40	1,618
T25	Gesso	Presente	1,36	70,50	1,919
T25	Gesso	Presente	1,66	76,80	0,998
T25	Gesso	Presente	2,28	72,90	1,117
T25	Gesso	Presente	2,05	57,40	1,248

Tabela 25A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz T30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
T30	Gesso	Ausente	1,18	70,50	1,061
T30	Gesso	Ausente	2,32	69,00	1,159
T30	Gesso	Ausente	1,05	65,40	1,130
T30	Gesso	Ausente	1,26	62,10	1,309
T30	Gesso	Ausente	1,54	71,40	1,102
T30	Gesso	Ausente	2,05	75,50	0,894
T30	Gesso	Ausente	2,33	66,80	1,105
T30	Gesso	Ausente	2,87	69,20	0,822
T30	Gesso	Ausente	1,45	69,50	0,900
T30	Gesso	Presente	1,45	67,10	1,372
T30	Gesso	Presente	1,18	72,00	0,938
T30	Gesso	Presente	2,33	62,70	0,854
T30	Gesso	Presente	2,02	67,80	1,702
T30	Gesso	Presente	1,30	69,00	1,652
T30	Gesso	Presente	1,45	65,20	1,466
T30	Gesso	Presente	1,54	67,50	0,903
T30	Gesso	Presente	1,75	60,60	1,155
T30	Gesso	Presente	2,16	68,30	1,273

Tabela 26A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e atividade metabólica da *C. albicans* (absorbância) referentes aos corpos-deprova processados em contato com o gesso e tratados com **verniz T35**

	100				
<u>Grupo</u>	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	XTT (Abs)
T35	Gesso	Ausente	2,10	72,10	1,360
T35	Gesso	Ausente	1,13	70,60	1,014
T35	Gesso	Ausente	1,95	67,20	1,101
T35	Gesso	Ausente	1,22	67,40	0,675
T35	Gesso	Ausente	3,35	69,00	1,362
T35	Gesso	Ausente	2,31	62,00	1,391
T35	Gesso	Ausente	1,33	74,80	0,934
T35	Gesso	Ausente	0,97	71,80	0,677
T35	Gesso	Ausente	1,05	68,90	0,730
T35	Gesso	Presente	2,34	64,00	1,008
T35	Gesso	Presente	1,09	70,00	1,221
T35	Gesso	Presente	2,13	57,40	1,012
T35	Gesso	Presente	2,47	55,00	1,951
T35	Gesso	Presente	1,11	65,30	1,756
T35	Gesso	Presente	1,60	64,30	1,354
T35	Gesso	Presente	2,65	66,00	1,133
T35	Gesso	Presente	2,95	70,30	1,488
T35	Gesso	Presente	3,23	58,70	1,218

Dados originais referentes à coloração Cristal Violeta

Tabela 27A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova do **grupo controle** processados entre vidros

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
Controle	Vidro	Ausente	0,27	63,30	848,72
Controle	Vidro	Ausente	0,32	62,20	597,44
Controle	Vidro	Ausente	0,21	59,70	629,49
Controle	Vidro	Ausente	0,19	58,80	733,33
Controle	Vidro	Ausente	0,27	71,70	837,18
Controle	Vidro	Ausente	0,15	70,10	700,00
Controle	Vidro	Ausente	0,24	68,60	812,82
Controle	Vidro	Ausente	0,03	55,40	758,97
Controle	Vidro	Ausente	0,19	59,20	582,05
Controle	Vidro	Presente	0,17	66,40	703,85
Controle	Vidro	Presente	0,13	71,10	319,23
Controle	Vidro	Presente	0,12	58,60	1097,44
Controle	Vidro	Presente	0,16	66,10	665,38
Controle	Vidro	Presente	0,28	56,80	979,49
Controle	Vidro	Presente	0,07	59,60	942,31
Controle	Vidro	Presente	0,22	72,30	1028,21
Controle	Vidro	Presente	0,30	64,70	703,85
Controle	Vidro	Presente	0,28	52,80	283,33

Tabela 28A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz M25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
M25	Vidro	Ausente	0,28	70,20	211,54
M25	Vidro	Ausente	0,11	58,70	226,92
M25	Vidro	Ausente	0,16	42,40	92,31
M25	Vidro	Ausente	0,07	52,50	332,05
M25	Vidro	Ausente	0,13	63,40	176,92
M25	Vidro	Ausente	0,23	75,90	162,82
M25	Vidro	Ausente	0,09	52,40	212,82
M25	Vidro	Ausente	0,24	53,80	250,00
M25	Vidro	Ausente	0,12	64,10	261,54
M25	Vidro	Presente	0,03	63,60	678,21
M25	Vidro	Presente	0,09	59,20	1258,97
M25	Vidro	Presente	0,21	59,60	1065,38
M25	Vidro	Presente	0,22	61,10	801,28
M25	Vidro	Presente	0,27	62,20	850,00
M25	Vidro	Presente	0,05	67,20	912,82
M25	Vidro	Presente	0,29	60,80	843,59
M25	Vidro	Presente	0,11	72,30	815,38
M25	Vidro	Presente	0,09	77,70	893,59

Tabela 29A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz M30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
M30	Vidro	Ausente	0,16	71,70	134,62
M30	Vidro	Ausente	0,22	76,70	173,08
M30	Vidro	Ausente	0,27	65,80	144,87
M30	Vidro	Ausente	0,13	60,30	110,26
M30	Vidro	Ausente	0,19	62,40	280,77
M30	Vidro	Ausente	0,03	63,20	174,36
M30	Vidro	Ausente	0,21	75,40	52,56
M30	Vidro	Ausente	0,23	78,10	200,00
M30	Vidro	Ausente	0,27	70,15	119,23
M30	Vidro	Presente	0,20	58,18	635,90
M30	Vidro	Presente	0,13	69,23	211,54
M30	Vidro	Presente	0,10	70,15	276,92
M30	Vidro	Presente	0,18	72,25	475,64
M30	Vidro	Presente	0,06	63,55	392,31
M30	Vidro	Presente	0,14	59,45	520,51
M30	Vidro	Presente	0,07	67,30	479,49
M30	Vidro	Presente	0,26	65,75	638,46
M30	Vidro	Presente	0,12	71,55	529,49

Tabela 30A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz M35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
M35	Vidro	Ausente	0,17	59,35	371,79
M35	Vidro	Ausente	0,15	75,70	25,64
M35	Vidro	Ausente	0,29	73,30	55,13
M35	Vidro	Ausente	0,18	63,70	2,56
M35	Vidro	Ausente	0,05	66,78	17,95
M35	Vidro	Ausente	0,03	72,45	0,00
M35	Vidro	Ausente	0,25	70,25	0,00
M35	Vidro	Ausente	0,30	71,70	82,05
M35	Vidro	Ausente	0,08	62,35	2,56
M35	Vidro	Presente	0,18	69,90	669,23
M35	Vidro	Presente	0,16	67,85	434,62
M35	Vidro	Presente	0,24	73,15	620,51
M35	Vidro	Presente	0,13	79,25	567,95
M35	Vidro	Presente	0,23	59,25	489,74
M35	Vidro	Presente	0,25	64,40	406,41
M35	Vidro	Presente	0,12	65,65	537,18
M35	Vidro	Presente	0,16	67,85	605,13
M35	Vidro	Presente	0,17	67,86	596,15

Tabela 31A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz P25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
P25	Vidro	Ausente	0,16	64,55	588,46
P25	Vidro	Ausente	0,25	59,65	587,18
P25	Vidro	Ausente	0,14	63,70	408,97
P25	Vidro	Ausente	0,23	66,35	546,15
P25	Vidro	Ausente	0,13	71,60	375,64
P25	Vidro	Ausente	0,17	72,25	466,67
P25	Vidro	Ausente	0,15	73,70	503,85
P25	Vidro	Ausente	0,09	75,40	446,15
P25	Vidro	Ausente	0,26	76,20	324,36
P25	Vidro	Presente	0,07	59,45	411,54
P25	Vidro	Presente	0,07	60,15	417,95
P25	Vidro	Presente	0,25	62,35	498,72
P25	Vidro	Presente	0,24	71,30	519,23
P25	Vidro	Presente	0,29	75,35	528,21
P25	Vidro	Presente	0,30	74,15	480,77
P25	Vidro	Presente	0,14	73,45	466,67
P25	Vidro	Presente	0,11	72,65	411,54
P25	Vidro	Presente	0,09	58,78	596,15

Tabela 32A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz P30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
P30	Vidro	Ausente	0,20	59,55	510,26
P30	Vidro	Ausente	0,04	60,15	365,38
P30	Vidro	Ausente	0,29	62,35	433,33
P30	Vidro	Ausente	0,10	52,34	414,10
P30	Vidro	Ausente	0,19	59,58	397,44
P30	Vidro	Ausente	0,22	52,45	342,31
P30	Vidro	Ausente	0,28	53,78	467,95
P30	Vidro	Ausente	0,30	52,25	456,41
P30	Vidro	Ausente	0,23	66,67	519,23
P30	Vidro	Presente	0,07	55,59	621,79
P30	Vidro	Presente	0,14	76,53	585,90
P30	Vidro	Presente	0,18	69,42	591,03
P30	Vidro	Presente	0,05	62,17	560,26
P30	Vidro	Presente	0,24	54,28	407,69
P30	Vidro	Presente	0,06	56,29	556,41
P30	Vidro	Presente	0,19	51,57	466,67
P30	Vidro	Presente	0,30	52,24	502,56
P30	Vidro	Presente	0,06	71,42	393,59

Tabela 33A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz P35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
P35	Vidro	Ausente	0,28	70,43	228,21
P35	Vidro	Ausente	0,23	70,25	124,36
P35	Vidro	Ausente	0,12	57,23	7,69
P35	Vidro	Ausente	0,25	58,12	210,26
P35	Vidro	Ausente	0,16	63,18	248,72
P35	Vidro	Ausente	0,18	64,17	28,21
P35	Vidro	Ausente	0,30	65,27	0,00
P35	Vidro	Ausente	0,29	52,19	16,67
P35	Vidro	Ausente	0,25	53,27	217,95
P35	Vidro	Presente	0,15	69,92	470,51
P35	Vidro	Presente	0,19	52,15	462,82
P35	Vidro	Presente	0,23	53,15	451,28
P35	Vidro	Presente	0,26	57,52	396,15
P35	Vidro	Presente	0,13	56,71	382,05
P35	Vidro	Presente	0,08	54,22	544,87
P35	Vidro	Presente	0,16	56,67	523,08
P35	Vidro	Presente	0,18	54,57	534,62
P35	Vidro	Presente	0,29	64,62	547,44

Tabela 34A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz E25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
E25	Vidro	Ausente	0,23	71,67	383,33
E25	Vidro	Ausente	0,15	77,76	341,03
E25	Vidro	Ausente	0,17	74,65	380,77
E25	Vidro	Ausente	0,28	61,27	478,21
E25	Vidro	Ausente	0,30	77,78	402,56
E25	Vidro	Ausente	0,10	63,23	485,90
E25	Vidro	Ausente	0,04	69,49	484,62
E25	Vidro	Ausente	0,09	61,41	508,97
E25	Vidro	Ausente	0,16	64,52	497,44
E25	Vidro	Presente	0,20	66,80	370,51
E25	Vidro	Presente	0,15	72,60	276,92
E25	Vidro	Presente	0,21	73,65	370,51
E25	Vidro	Presente	0,15	77,89	483,33
E25	Vidro	Presente	0,13	68,70	442,31
E25	Vidro	Presente	0,29	61,60	611,54
E25	Vidro	Presente	0,29	63,50	496,15
E25	Vidro	Presente	0,07	67,80	521,79
E25	Vidro	Presente	0,15	63,80	460,26

Tabela 35A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz E30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
E30	Vidro	Ausente	0,09	70,80	262,82
E30	Vidro	Ausente	0,16	74,00	233,33
E30	Vidro	Ausente	0,22	68,00	228,21
E30	Vidro	Ausente	0,27	65,80	229,49
E30	Vidro	Ausente	0,28	69,60	219,23
E30	Vidro	Ausente	0,19	66,70	276,92
E30	Vidro	Ausente	0,27	65,80	247,44
E30	Vidro	Ausente	0,11	69,80	214,10
E30	Vidro	Ausente	0,09	70,80	228,21
E30	Vidro	Presente	0,23	74,90	365,38
E30	Vidro	Presente	0,16	75,80	489,74
E30	Vidro	Presente	0,09	73,80	343,59
E30	Vidro	Presente	0,04	73,50	329,49
E30	Vidro	Presente	0,03	63,00	392,31
E30	Vidro	Presente	0,16	64,80	380,77
E30	Vidro	Presente	0,19	67,90	375,64
E30	Vidro	Presente	0,23	65,80	598,72
E30	Vidro	Presente	0,04	72,80	344,87

Tabela 36A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz E35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
E35	Vidro	Ausente	0,05	69,80	60,26
E35	Vidro	Ausente	0,18	60,49	92,31
E35	Vidro	Ausente	0,16	67,04	916,67
E35	Vidro	Ausente	0,30	65,60	5,13
E35	Vidro	Ausente	0,25	66,90	52,56
E35	Vidro	Ausente	0,24	62,80	64,10
E35	Vidro	Ausente	0,29	63,70	120,51
E35	Vidro	Ausente	0,19	77,08	119,23
E35	Vidro	Ausente	0,18	71,80	141,03
E35	Vidro	Presente	0,05	70,40	174,36
E35	Vidro	Presente	0,18	65,80	221,79
E35	Vidro	Presente	0,07	65,80	326,92
E35	Vidro	Presente	0,19	67,90	133,33
E35	Vidro	Presente	0,30	70,80	171,79
E35	Vidro	Presente	0,22	73,90	192,31
E35	Vidro	Presente	0,20	72,00	364,10
E35	Vidro	Presente	0,16	62,08	176,92
E35	Vidro	Presente	0,08	64,80	270,51

Tabela 37A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz T25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
T25	Vidro	Ausente	0,28	74,50	341,03
T25	Vidro	Ausente	0,30	73,80	337,18
T25	Vidro	Ausente	0,26	72,50	498,72
T25	Vidro	Ausente	0,30	70,40	483,33
T25	Vidro	Ausente	0,09	79,00	484,62
T25	Vidro	Ausente	0,16	73,40	393,59
T25	Vidro	Ausente	0,17	77,00	391,03
T25	Vidro	Ausente	0,17	72,90	428,21
T25	Vidro	Ausente	0,04	75,50	315,38
T25	Vidro	Presente	0,07	74,20	400,00
T25	Vidro	Presente	0,17	75,00	430,77
T25	Vidro	Presente	0,27	68,80	396,15
T25	Vidro	Presente	0,24	67,50	534,62
T25	Vidro	Presente	0,18	74,40	453,85
T25	Vidro	Presente	0,13	79,30	447,44
T25	Vidro	Presente	0,19	83,00	501,28
T25	Vidro	Presente	0,28	71,60	444,87
T25	Vidro	Presente	0,23	64,50	443,59

Tabela 38A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz T30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
T30	Vidro	Ausente	0,19	70,50	326,92
T30	Vidro	Ausente	0,16	68,50	230,77
T30	Vidro	Ausente	0,28	63,70	264,10
T30	Vidro	Ausente	0,30	62,90	289,74
T30	Vidro	Ausente	0,18	61,00	287,18
T30	Vidro	Ausente	0,13	77,60	279,49
T30	Vidro	Ausente	0,02	74,00	323,08
T30	Vidro	Ausente	0,07	75,80	233,33
T30	Vidro	Ausente	0,21	70,20	250,00
T30	Vidro	Presente	0,26	69,60	471,79
T30	Vidro	Presente	0,19	75,90	369,23
T30	Vidro	Presente	0,09	71,20	325,64
T30	Vidro	Presente	0,04	77,50	360,26
T30	Vidro	Presente	0,09	82,00	402,56
T30	Vidro	Presente	0,14	75,40	276,92
T30	Vidro	Presente	0,29	76,40	357,69
T30	Vidro	Presente	0,28	78,20	358,97
T30	Vidro	Presente	0,12	74,30	362,82

Tabela 39A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados entre vidros e tratados com **verniz T35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
T35	Vidro	Ausente	0,07	69,90	119,23
T35	Vidro	Ausente	0,15	66,90	250,00
T35	Vidro	Ausente	0,18	72,00	17,95
T35	Vidro	Ausente	0,20	83,00	143,59
T35	Vidro	Ausente	0,30	76,40	142,31
T35	Vidro	Ausente	0,13	71,30	180,77
T35	Vidro	Ausente	0,19	73,30	243,59
T35	Vidro	Ausente	0,28	70,10	196,15
T35	Vidro	Ausente	0,20	63,50	179,49
T35	Vidro	Presente	0,16	62,50	134,62
T35	Vidro	Presente	0,13	68,80	351,28
T35	Vidro	Presente	0,05	69,40	83,33
T35	Vidro	Presente	0,07	65,40	234,62
T35	Vidro	Presente	0,22	66,70	287,18
T35	Vidro	Presente	0,08	72,60	220,51
T35	Vidro	Presente	0,14	71,30	200,00
T35	Vidro	Presente	0,15	70,50	289,74
T35	Vidro	Presente	0,20	64,00	232,05

Tabela 40A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova do **grupo controle** processados em contato com o gesso

Controle processados em contato com o gesso						
Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²	
Controle	Gesso	Ausente	2,80	67,00	1820,51	
Controle	Gesso	Ausente	1,90	63,20	1491,03	
Controle	Gesso	Ausente	1,25	60,60	1544,87	
Controle	Gesso	Ausente	1,28	68,20	1103,85	
Controle	Gesso	Ausente	3,37	65,00	1352,56	
Controle	Gesso	Ausente	3,53	59,80	966,67	
Controle	Gesso	Ausente	2,32	59,83	798,72	
Controle	Gesso	Ausente	2,13	71,20	700,00	
Controle	Gesso	Ausente	1,98	74,50	624,36	
Controle	Gesso	Presente	1,35	76,90	156,41	
Controle	Gesso	Presente	2,07	73,80	889,74	
Controle	Gesso	Presente	2,43	72,30	5752,56	
Controle	Gesso	Presente	2,10	67,80	1244,87	
Controle	Gesso	Presente	1,65	64,30	1184,62	
Controle	Gesso	Presente	1,98	65,40	106,41	
Controle	Gesso	Presente	1,72	76,50	156,41	
Controle	Gesso	Presente	2,76	72,00	3365,38	
Controle	Gesso	Presente	2,47	74,90	2430,77	

Tabela 41A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz M25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
M25	Gesso	Ausente	3,06	68,90	1448,72
M25	Gesso	Ausente	3,45	65,70	1384,62
M25	Gesso	Ausente	2,43	63,56	1689,74
M25	Gesso	Ausente	2,87	61,80	1438,46
M25	Gesso	Ausente	2,15	64,80	1839,74
M25	Gesso	Ausente	1,67	58,76	487,18
M25	Gesso	Ausente	3,05	64,00	2042,31
M25	Gesso	Ausente	1,87	72,6	2206,41
M25	Gesso	Ausente	2,09	73,76	833,33
M25	Gesso	Presente	1,26	65,00	116,60
M25	Gesso	Presente	1,83	67,80	84,60
M25	Gesso	Presente	1,45	63,80	228,20
M25	Gesso	Presente	0,76	76,00	314,10
M25	Gesso	Presente	1,39	74,80	171,79
M25	Gesso	Presente	1,67	65,80	147,40
M25	Gesso	Presente	2,37	64,20	121,80
M25	Gesso	Presente	2,06	60,40	176,90
M25	Gesso	Presente	2,56	63,77	278,20

Tabela 42A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz M30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
M30	Gesso	Ausente	3,42	72,10	1089,74
M30	Gesso	Ausente	1,64	76,40	932,05
M30	Gesso	Ausente	1,35	78,40	1006,41
M30	Gesso	Ausente	1,29	62,80	1258,97
M30	Gesso	Ausente	1,69	66,30	1107,69
M30	Gesso	Ausente	1,62	65,90	1065,38
M30	Gesso	Ausente	1,03	62,70	941,03
M30	Gesso	Ausente	2,78	70,70	1320,51
M30	Gesso	Ausente	2,76	70,14	1253,85
M30	Gesso	Presente	2,16	69,00	148,70
M30	Gesso	Presente	2,37	67,20	134,60
M30	Gesso	Presente	2,48	65,50	151,28
M30	Gesso	Presente	1,57	72,00	376,90
M30	Gesso	Presente	1,89	73,40	288,40
M30	Gesso	Presente	1,93	78,00	133,30
M30	Gesso	Presente	1,63	65,98	146,10
M30	Gesso	Presente	1,73	64,60	92,30
M30	Gesso	Presente	1,85	61,90	120,50

Tabela 43A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz M35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
M35	Gesso	Ausente	1,34	62,70	569,23
M35	Gesso	Ausente	1,56	73,90	182,05
M35	Gesso	Ausente	1,79	71,50	523,08
M35	Gesso	Ausente	1,27	70,80	174,36
M35	Gesso	Ausente	1,59	59,70	1097,44
M35	Gesso	Ausente	1,05	67,50	923,08
M35	Gesso	Ausente	2,63	66,90	838,46
M35	Gesso	Ausente	2,60	69,80	780,77
M35	Gesso	Ausente	1,11	65,40	752,56
M35	Gesso	Presente	2,22	58,60	194,80
M35	Gesso	Presente	2,38	67,90	375,60
M35	Gesso	Presente	2,98	65,00	362,80
M35	Gesso	Presente	2,76	65,90	155,10
M35	Gesso	Presente	1,85	70,00	385,80
M35	Gesso	Presente	1,75	64,30	134,60
M35	Gesso	Presente	1,62	65,60	120,50
M35	Gesso	Presente	1,26	68,70	105,10
M35	Gesso	Presente	3,09	65,20	130,70

Tabela 44A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz P25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
P25	Gesso	Ausente	0,97	66,40	2428,21
P25	Gesso	Ausente	1,28	66,90	2482,05
P25	Gesso	Ausente	1,43	77,70	1311,54
P25	Gesso	Ausente	1,89	65,80	1416,67
P25	Gesso	Ausente	1,65	65,90	1871,79
P25	Gesso	Ausente	1,42	78,90	1320,51
P25	Gesso	Ausente	2,05	63,90	1267,95
P25	Gesso	Ausente	2,65	65,80	1147,44
P25	Gesso	Ausente	1,84	65,90	2248,72
P25	Gesso	Presente	1,39	64,90	446,10
P25	Gesso	Presente	1,46	63,90	751,20
P25	Gesso	Presente	1,20	66,90	758,90
P25	Gesso	Presente	1,73	67,50	530,70
P25	Gesso	Presente	2,54	65,90	515,30
P25	Gesso	Presente	2,67	79,00	365,30
P25	Gesso	Presente	2,98	68,70	300,00
P25	Gesso	Presente	2,54	62,90	489,70
P25	Gesso	Presente	1,57	65,80	387,10

Tabela 45A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz P30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
P30	Gesso	Ausente	0,87	64,70	1003,85
P30	Gesso	Ausente	2,28	74,50	1583,33
P30	Gesso	Ausente	1,68	72,20	1738,46
P30	Gesso	Ausente	1,27	77,80	1780,77
P30	Gesso	Ausente	1,45	73,40	1766,67
P30	Gesso	Ausente	2,87	73,70	1928,21
P30	Gesso	Ausente	1,67	75,70	2121,79
P30	Gesso	Ausente	1,31	72,10	2284,62
P30	Gesso	Ausente	2,02	66,90	2158,97
P30	Gesso	Presente	2,34	64,60	502,50
P30	Gesso	Presente	2,70	72,20	282,00
P30	Gesso	Presente	1,36	69,70	192,30
P30	Gesso	Presente	1,76	68,50	220,50
P30	Gesso	Presente	1,36	63,40	319,20
P30	Gesso	Presente	1,24	76,90	278,20
P30	Gesso	Presente	1,46	72,10	419,20
P30	Gesso	Presente	1,44	76,40	246,10
P30	Gesso	Presente	1,18	71,60	224,30

Tabela 46A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz P35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
P35	Gesso	Ausente	1,78	75,60	2974,36
P35	Gesso	Ausente	0,81	72,10	2621,79
P35	Gesso	Ausente	2,27	69,90	2366,67
P35	Gesso	Ausente	2,18	68,90	2512,82
P35	Gesso	Ausente	1,88	66,70	2348,72
P35	Gesso	Ausente	1,29	64,20	1983,33
P35	Gesso	Ausente	2,56	66,00	2120,51
P35	Gesso	Ausente	1,82	69,50	2023,08
P35	Gesso	Ausente	2,17	70,00	2023,08
P35	Gesso	Presente	1,32	76,50	96,10
P35	Gesso	Presente	0,92	62,00	373,00
P35	Gesso	Presente	2,98	68,40	782,00
P35	Gesso	Presente	2,01	67,20	308,90
P35	Gesso	Presente	3,18	66,70	423,00
P35	Gesso	Presente	1,28	73,00	442,00
P35	Gesso	Presente	1,01	67,90	539,70
P35	Gesso	Presente	1,77	71,90	1244,00
P35	Gesso	Presente	1,53	77,50	808,90

Tabela 47A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz E25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
E25	Gesso	Ausente	2,64	68,00	1137,18
E25	Gesso	Ausente	1,39	68,50	1096,15
E25	Gesso	Ausente	1,58	63,80	1237,18
E25	Gesso	Ausente	1,51	59,80	1280,77
E25	Gesso	Ausente	1,62	70,90	1085,90
E25	Gesso	Ausente	1,68	75,80	1119,23
E25	Gesso	Ausente	1,84	72,90	1092,31
E25	Gesso	Ausente	2,12	65,80	1084,62
E25	Gesso	Ausente	1,34	69,60	1103,85
E25	Gesso	Presente	1,46	66,00	139,74
E25	Gesso	Presente	1,98	68,90	302,56
E25	Gesso	Presente	1,23	73,60	511,53
E25	Gesso	Presente	2,12	76,90	1070,00
E25	Gesso	Presente	1,25	77,80	1850,00
E25	Gesso	Presente	1,57	71,20	1678,00
E25	Gesso	Presente	1,78	66,40	1083,00
E25	Gesso	Presente	1,89	66,70	137,17
E25	Gesso	Presente	1,85	69,00	1300,00

Tabela 48A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz E30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
E30	Gesso	Ausente	1,38	68,70	1314,10
E30	Gesso	Ausente	1,06	70,10	1301,28
E30	Gesso	Ausente	1,78	71,00	1239,74
E30	Gesso	Ausente	1,89	70,90	1215,38
E30	Gesso	Ausente	1,86	72,90	1051,28
E30	Gesso	Ausente	1,73	74,80	1069,23
E30	Gesso	Ausente	2,56	66,80	1107,69
E30	Gesso	Ausente	1,72	69,60	1052,56
E30	Gesso	Ausente	1,47	65,80	985,90
E30	Gesso	Presente	1,34	74,00	264,10
E30	Gesso	Presente	2,14	76,90	401,20
E30	Gesso	Presente	2,11	72,78	129,40
E30	Gesso	Presente	2,18	75,00	197,43
E30	Gesso	Presente	1,83	71,40	644,80
E30	Gesso	Presente	1,77	66,90	446,10
E30	Gesso	Presente	2,19	69,00	562,80
E30	Gesso	Presente	1,27	65,70	480,70
E30	Gesso	Presente	1,12	60,90	693,58

Tabela 49A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz E35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
E35	Gesso	Ausente	2,10	64,80	669,23
E35	Gesso	Ausente	2,53	63,00	838,46
E35	Gesso	Ausente	1,55	68,40	875,64
E35	Gesso	Ausente	0,89	73,20	956,41
E35	Gesso	Ausente	2,85	74,60	930,77
E35	Gesso	Ausente	2,70	70,00	970,51
E35	Gesso	Ausente	1,16	72,00	1157,69
E35	Gesso	Ausente	1,25	67,98	584,62
E35	Gesso	Ausente	2,24	65,00	857,69
E35	Gesso	Presente	0,98	62,00	27,30
E35	Gesso	Presente	0,77	65,80	671,70
E35	Gesso	Presente	1,40	68,90	85,89
E35	Gesso	Presente	1,16	72,80	100,00
E35	Gesso	Presente	2,00	75,30	389,70
E35	Gesso	Presente	2,46	65,40	138,40
E35	Gesso	Presente	2,06	63,55	352,56
E35	Gesso	Presente	2,53	72,50	376,92
E35	Gesso	Presente	1,04	65,40	144,80

Tabela 50A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz T25**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
T25	Gesso	Ausente	2,39	77,06	1234,62
T25	Gesso	Ausente	1,42	70,80	1180,77
T25	Gesso	Ausente	2,08	73,80	1355,13
T25	Gesso	Ausente	2,12	65,40	670,51
T25	Gesso	Ausente	1,44	60,00	496,15
T25	Gesso	Ausente	1,97	63,20	584,62
T25	Gesso	Ausente	1,68	66,60	621,79
T25	Gesso	Ausente	1,85	70,20	752,56
T25	Gesso	Ausente	2,28	76,10	1062,82
T25	Gesso	Presente	1,77	61,80	947,40
T25	Gesso	Presente	1,99	68,90	123,00
T25	Gesso	Presente	1,13	65,90	880,20
T25	Gesso	Presente	1,66	67,90	761,50
T25	Gesso	Presente	2,05	70,10	707,60
T25	Gesso	Presente	1,92	62,90	914,10
T25	Gesso	Presente	2,68	63,60	1079,40
T25	Gesso	Presente	1,64	77,40	1160,20
T25	Gesso	Presente	1,21	76,80	929,40

Tabela 51A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz T30**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²
T30	Gesso	Ausente	1,36	73,60	432,05
T30	Gesso	Ausente	1,87	72,65	393,59
T30	Gesso	Ausente	1,95	71,40	755,13
T30	Gesso	Ausente	1,55	69,00	985,90
T30	Gesso	Ausente	1,72	72,53	1030,77
T30	Gesso	Ausente	1,14	70,90	1105,13
T30	Gesso	Ausente	2,40	69,20	1056,41
T30	Gesso	Ausente	1,61	69,50	907,69
T30	Gesso	Ausente	1,26	64,80	960,26
T30	Gesso	Presente	1,34	69,50	123,07
T30	Gesso	Presente	1,15	70,32	275,64
T30	Gesso	Presente	1,19	72,80	467,90
T30	Gesso	Presente	1,87	72,50	951,28
T30	Gesso	Presente	1,35	69,70	1175,60
T30	Gesso	Presente	2,07	67,90	834,60
T30	Gesso	Presente	2,45	65,80	766,60
T30	Gesso	Presente	1,56	77,90	684,60
T30	Gesso	Presente	1,78	71,20	758,90

Tabela 52A. Valores de rugosidade média (μm), ângulo de contato (°) e contagem de *C. albicans* (cel/mm²) referentes aos corpos-de-prova processados contra o gesso e tratados com **verniz T35**

Grupo	Superfície	Saliva	Rugosidade (µm)	AC (°)	Cel/mm ²	
T35	Gesso	Ausente	2,22	69,60	796,15	
T35	Gesso	Ausente	1,65	76,00	966,67	
T35	Gesso	Ausente	1,90	65,90	1011,54	
T35	Gesso	Ausente	1,45	71,40	1300,00	
T35	Gesso	Ausente	1,82	76,00	924,36	
T35	Gesso	Ausente	2,28	65,40	1002,56	
T35	Gesso	Ausente	2,03	66,78	530,77	
T35	Gesso	Ausente	2,11	68,60	519,23	
T35	Gesso	Ausente	1,15	72,00	726,92	
T35	Gesso	Presente	1,40	71,80	433,30	
T35	Gesso	Presente	1,33	76,60	446,10	
T35	Gesso	Presente	1,45	69,20	1842,30	
T35	Gesso	Presente	1,76	75,20	1960,20	
T35	Gesso	Presente	2,09	76,00	1002,50	
T35	Gesso	Presente	2,22	65,90	1221,70	
T35	Gesso	Presente	2,43	64,00	1037,10	
T35	Gesso	Presente	1,76	63,80	929,40	
T35	Gesso	Presente	1,50	62,80	1074,30	

Autorizo a reprodução deste trabalho.
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 29 de julho de 2009.

ANDRÉA AZEVEDO LAZARIN

pdfMachine - is a pdf writer that produces quality PDF files with ease! Get yours now!

"Thank you very much! I can use Acrobat Distiller or the Acrobat PDFWriter but I consider your product a lot easier to use and much preferable to Adobe's" A.Sarras - USA

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

<u>Baixar</u>	livros	de	Adm	<u>inis</u>	tra	ção

Baixar livros de Agronomia

Baixar livros de Arquitetura

Baixar livros de Artes

Baixar livros de Astronomia

Baixar livros de Biologia Geral

Baixar livros de Ciência da Computação

Baixar livros de Ciência da Informação

Baixar livros de Ciência Política

Baixar livros de Ciências da Saúde

Baixar livros de Comunicação

Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE

Baixar livros de Defesa civil

Baixar livros de Direito

Baixar livros de Direitos humanos

Baixar livros de Economia

Baixar livros de Economia Doméstica

Baixar livros de Educação

Baixar livros de Educação - Trânsito

Baixar livros de Educação Física

Baixar livros de Engenharia Aeroespacial

Baixar livros de Farmácia

Baixar livros de Filosofia

Baixar livros de Física

Baixar livros de Geociências

Baixar livros de Geografia

Baixar livros de História

Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura

Baixar livros de Literatura de Cordel

Baixar livros de Literatura Infantil

Baixar livros de Matemática

Baixar livros de Medicina

Baixar livros de Medicina Veterinária

Baixar livros de Meio Ambiente

Baixar livros de Meteorologia

Baixar Monografias e TCC

Baixar livros Multidisciplinar

Baixar livros de Música

Baixar livros de Psicologia

Baixar livros de Química

Baixar livros de Saúde Coletiva

Baixar livros de Serviço Social

Baixar livros de Sociologia

Baixar livros de Teologia

Baixar livros de Trabalho

Baixar livros de Turismo