

ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA
ODONTOLÓGICA

**AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL E ADESÃO
DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EM TRÊS CERÂMICAS DE
*RECOBRIMENTO***

Carine Schitini Pinheiro d'Almeida Monteiro
Orientadora: Profa. Dra. Emilena Maria Castor Xisto Lima
Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Robato Nunes

SALVADOR
2010

CARINE SCHITINI PINHEIRO D'ALMEIDA MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL E ADESÃO
DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EM TRÊS CERÂMICAS DE
*RECOBRIMENTO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, como requisito parcial para aprovação do Mestrado de Odontologia com área de concentração em Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Emilena Maria Castor Xisto Lima

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Robatto Nunes

SALVADOR
2010

AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL E ADESÃO DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EM TRÊS CERÂMICAS DE *RECOBRIMENTO*

Carine Schitini Pinheiro d'Almeida Monteiro

Folha de aprovação

Comissão Julgadora

Membros Titulares:

Dra. Emilena Maria Castor Xisto Lima
Professora Adjunta da União Metropolitana de Educação e Cultura e da Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública
Dr^a. em Clínica Odontológica (UNICAMP)

Dra. Carolina Baptista Miranda
Professora Adjunta da União Metropolitana de Educação e Cultura
Dr^a. em Dentística Restauradora (UNESP)

Dr. Nelson Gnoatto
Professor adjunto da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
Dr. em Periodontia (USP)

Dra. Viviane Maia Barreto de Oliveira
Professora Adjunta da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
Dr^a. em Clínica Odontológica – Prótese Dental (UNICAMP)

Membro Suplente:

Dr^a. Blanca Liliana Torres León
Professora Adjunta da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública;
Dr^a. em Clínica Odontológica – Prótese Dental (UNICAMP)

INSTITUIÇÃO ENVOLVIDA



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

DEDICATÓRIA

Ao meu querido marido, pais e irmão

AGRADECIMENTOS

À Deus, por minha vida.

À Adriano por toda dedicação, amor, paciência e incentivo durante essa etapa, muitas vezes se doando de forma tão intensa, tão carinhosa que não tenho nem como agradecer. Sem você tudo seria mais difícil.

Aos meus pais, Sérgio e Railda, base da minha vida, meu alicerce, agradeço os momentos de apoio, companhia, transmitindo sempre muito amor e tranquilidade.

Ao meu irmão Igor por ter me compreendido e incentivado durante esta jornada.

Aos meus avós, tenho certeza que me iluminaram.

À Prof.Dra. Emilena Lima, em especial, não só pela orientação primorosa, dispensando grande parte de seu tempo e energia, mas pelo exemplo de vida, como ser humano e como profissional.

À Prof Dra Ana Carla Robatto pela brilhante co-orientação.

Aos meus colegas de Mestrado, que transformaram esta árdua jornada em momentos extremamente prazerosos, em especial a minha amiga Rebeca.

Aos professores do Mestrado por todo ensinamento transmitido.

À Nuno por ter dividido comigo muitas das dificuldades vividas durante a realização desse trabalho.

À Prof. Dra Viviane Maia pela atenção, disponibilidade e cuidado para conclusão desse trabalho.

Às Profs. Leila Queiroz e Mônica Franca pela ajuda na construção da metodologia do trabalho.

Aos funcionários Gilmar, Flor, George, Marizete, Edna, Nessa por toda disponibilidade na realização desse trabalho.

Às minhas amigas que souberam compreender minha ausência.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIV	-	Cimento de Ionômero de Vidro
ELS	-	Energia livre superficial
Ra	-	Média aritmética
TSA	-	Ágar Soja Tryptcase
TSB	-	Caldo Soja Tryptcase
PBS	-	Solução de Fosfato de Potássio Tamponada
Dp	-	Desvio padrão
cm	-	Centímetro (s)
mm	-	Milímetro (s)
µm	-	Micrômetros (s)
UFC/ml		Unidade Formadora de Colônia por ml

LISTA DE GRÁFICO, QUADRO, TABELAS E FIGURAS

GRÁFICO 1	Curva de crescimento das amostras de <i>S. mutans</i> .	30
QUADRO 1	Divisão dos grupos	27
TABELA 1	Médias e desvios padrão da Rugosidade superficial (em μm) dos diferentes grupos de estudo.	33
TABELA 2	Número de células de streptococcus mutans ($\times 10^4$) aderidos nos diferentes grupos de estudo.	34
TABELA 3	Associação entre o crescimento bacteriano e a rugosidade superficial.	35
FIGURA 1	Matriz metálica utilizada para confecção dos corpos de prova	24
FIGURA 2	Forno VITA VACUMAT 40T	25
FIGURA 3	Politriz Aropol 2V (AROTEC)	26
FIGURA 4	Leitura da rugosidade superficial	27
FIGURA 5	Desgaste simulando o ajuste oclusal	28
FIGURA 6	Corpo de prova fixado na alça	31
FIGURA 7	Corpo de prova em suspensão bacteriana	32
FIGURA 8	Corpos de prova sendo sonicado	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
MANUSCRITO 1	3
RESUMO	4
2. INTRODUÇÃO	5
3. REVISÃO DE LITERATURA e DISCUSSÃO	6
Amálgama	7
Ionômero de Vidro	8
Resina Composta	9
Cerâmica	11
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	13
ABSTRACT	14
REFERÊNCIAS	15
MANUSCRITO II	21
RESUMO	22
5. INTRODUÇÃO	23
6. MATERIAL E MÉTODO	24
6.1 Confeção do corpo de prova	24
6.2 Avaliação da rugosidade superficial	26
6.3 Divisão dos grupos	27
6.4 Desgaste simulando o ajuste oclusal:	28
6.5 Polimento das amostra	29
6.6 Avaliação da rugosidade superficial	29

6.7 Determinação da Curva de crescimento	29
6.8 Preparo do Inóculo Bacteriano	30
6.9 Ensaio de adesão bacteriana	31
7. RESULTADOS	33
8. DISCUSSÃO	35
9. CONCLUSÃO	38
ABSTRACT	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO	43

1. INTRODUÇÃO

Na odontologia, observam-se inúmeros avanços em todas as áreas de atuação, mas atenção especial vem sendo dada à estética, uma vez que apresenta uma importância significativa no convívio social diário, no ambiente de trabalho e para a saúde psicológica do indivíduo.^{P2}

Para solucionar os desafios estéticos e funcionais atualmente são utilizados diversos materiais restauradores que exercem grande influência na aderência do biofilme pela presença de características como a rugosidade de superfície, energia livre de superfície, composição química e propriedades antibacterianas.^{R31,38,24}

A presença do biofilme nas margens de esmalte adjacentes às restaurações são suscetíveis ao surgimento das lesões de cárie secundária, provocada, principalmente, pelo acúmulo de biofilme, além da formação de fendas marginais, desadaptações e porosidades, sendo o principal motivo para a substituição de restaurações.^{P13} Materiais restauradores que apresentam características de superfície distintas do esmalte dentário afetam a formação da película adquirida e a subsequente colonização bacteriana.^{P3}

Neste contexto, as restaurações em cerâmicas, por apresentarem padrões estéticos diferenciados, e características físico-químicas, que dificultam o acúmulo do biofilme, são uma das principais alternativas de escolha de tratamento reabilitador, em busca do binômio estética biocompatibilidade. Diversas cerâmicas de recobrimento presentes no mercado odontológico podem apresentar irregularidades superficiais que alterem inicialmente a formação do biofilme, determinando, conseqüentemente, padrões distintos de composição do biofilme.

Diante disso, é de fundamental importância o conhecimento das características dos materiais odontológicos, mais utilizados na prática odontológica, que influenciam, de alguma forma, a adesão bacteriana.

Desta forma, os objetivos deste trabalho são: 1) revisar na literatura aspectos relacionados à adesão bacteriana nos diferentes materiais odontológicos e 2) Avaliar a rugosidade superficial e a aderência de *Streptococcus mutans* em cerâmicas de recobrimento.

Este trabalho consiste em uma dissertação de Mestrado com concentração na área de Clínica Odontológica, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, intitulado: “Avaliação da rugosidade superficial e adesão de *Streptococcus mutans* em três cerâmicas de recobrimento”. A primeira parte do trabalho consiste na revisão da literatura sob a forma de Manuscrito I e a segunda parte do trabalho está sob a forma de Manuscrito II e corresponde à dissertação propriamente dita com informações sobre metodologia, resultados, discussão e conclusão.

As citações referentes ao manuscrito I estão precedidas pela letra R. As citações referentes ao manuscrito II estão precedidas pela letra P.

**Aderência bacteriana em diferentes materiais odontológicos:
uma revisão de literatura**

Carine Schitini Pinheiro d'Almeida Monteiro

Orientadora: Profa. Dra. Emilena Maria Castor Xisto Lima

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Robatto Nunes

Salvador-Ba

2010

RESUMO

A adesão de bactérias bucais às superfícies biológicas e artificiais desempenha papel fundamental na etiologia de doenças como cárie e periodontite. Neste contexto, fatores que, de alguma forma, afetem esta adesão tornam-se relevantes. Os materiais odontológicos apresentam características de superfície e composições distintas, influenciando diretamente no processo de aderência bacteriana. Assim, o objetivo desse estudo foi revisar na literatura aspectos relacionados à aderência bacteriana em diferentes materiais odontológicos. Foram discutidos diversos materiais restauradores, dentre eles: amálgama, cimento de ionômero de vidro, resinas compostas e cerâmicas e observou-se que o amálgama apresenta boa lisura superficial, certa toxicidade e características antibacterianas; por outro lado, sua estética é um fator limitante. O ionômero de vidro possui alta rugosidade superficial, intensificando o acúmulo de biofilme; entretanto, apresenta uma importante propriedade antibacteriana, a liberação de flúor. As resinas compostas apresentam lisura de superfície inadequada, porém quando polidas tornam-se apropriadas. As cerâmicas são materiais vítreos inertes, que apresentam grande lisura superficial, e conseqüentemente, promovem um menor acúmulo de biofilme. Diante disso, verificou-se que a aderência de bactérias é diferente nos diversos materiais restauradores, devido principalmente à lisura superficial e a interação de microorganismos com os mesmos.

Palavras chaves: Biofilme, materiais restauradores e microorganismo.

2. INTRODUÇÃO

A adsorção da película adquirida e a formação do biofilme ocorrem em todas as superfícies sólidas expostas na cavidade oral, sejam elas naturais como o esmalte e cimento ou artificiais como os materiais restauradores¹. A formação do biofilme oral, dada pela adsorção de componentes da saliva, exudatos gengivais e produtos bacterianos, é o primeiro passo para a aderência bacteriana² e o acúmulo do biofilme nas superfícies é um importante fator para o desenvolvimento da cárie e outras patologias orais³⁻⁴.

Segundo Carlen *et al.*⁵ materiais odontológicos que apresentam características de superfícies distintas das apresentadas pelo esmalte dental, afetam a formação da película adquirida e subsequente adesão e colonização bacteriana. As características físico-químicas dos materiais como a energia livre de superfície e a interação específica dos microorganismos com os polímeros salivares interferem diretamente no processo de colonização⁶. Além disso, as forças iônicas presente no meio líquido circundante e a rugosidade de superfície podem influenciar o início da adesão bacteriana e conseqüentemente o desenvolvimento da doença cárie e das lesões de cáries secundárias.⁷⁻⁸

É notória a relação diretamente proporcional entre o acúmulo do biofilme e o surgimento de lesões cariosas secundárias, sendo esta a principal razão para substituição das restaurações.⁹ Neste contexto, houve um aumento no interesse do uso de materiais dentários que possam, de alguma forma, através de suas características, contribuir para a manutenção do equilíbrio no processo da adesão bacteriana.

Segundo Auschill *et al.*³ materiais dentários como o amálgama, o ouro, compômeros e o cimento de ionômero de vidro exercem grande influência na microflora do biofilme aderido. Diversos fatores como a rugosidade superficial, a composição química dos materiais, a atração preferencial de material biológico morto por superfícies ásperas, a morte de microorganismos após a adesão inicial e o efeito de produtos antibacterianos liberados por alguns materiais apresentam importante papel neste processo.

Desse modo, o uso de materiais que possuam características físico-químicas compatíveis com saúde e que possam liberar substâncias que aumentem a resistência à cárie e a doença periodontal, tornam-se um dos principais parâmetros a serem analisados pelos profissionais durante a escolha do material no tratamento estético e reabilitador. Diante disso, este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão de literatura discutindo aspectos relacionados à adesão bacteriana em diferentes materiais odontológicos.

3. REVISÃO DE LITERATURA E DISCUSSÃO

As bactérias orais têm o poder de aderir as unidades dentárias e a diversos tipos de materiais odontológicos.¹⁰ No esmalte, a colonização superficial tem início nas suas irregularidades.¹¹ onde os microrganismos estão protegidos dos mecanismos de controle e regulação da microbiota.¹²⁻¹³ Segundo Curtiss¹⁴, a adesão bacteriana passa de uma fase inicial reversível para uma fase de adesão mais forte, considerada irreversível.

A estética e longevidade das restaurações são altamente dependentes da sua composição química e características de superfície.¹⁵ Segundo Nassar et al.¹⁶ a energia livre de superfície, pode influenciar na composição da película adquirida adsorvida e conseqüentemente, na formação do biofilme. Também, a rugosidade superficial influencia a quantidade e a velocidade de formação do biofilme.¹²⁻¹⁷ Quirynen e Bollen⁰⁸, afirmam que a rugosidade superficial exerce grande influência na formação da placa supragengival mencionando a importância da lisura superficial para o sucesso restaurador. Por outro lado, Keenan *et al.*¹⁸ concluíram que a lisura superficial não é suficiente para prevenir a formação de biofilme.

Segundo Roulet e Roulet-Mehrens,¹⁹ a realização de procedimentos de polimento nas restaurações exerce um papel fundamental na rugosidade de superfície. O polimento, após a realização das restaurações, irá dificultar o acúmulo de biofilme, melhorar a tolerância dos tecidos periodontais, aumentar a resistência dos compósitos à impregnação de corantes e ao desgaste tornando a textura superficial o mais harmoniosa possível.¹²

Existem controvérsias na literatura com relação à aderência bacteriana nos materiais odontológicos. Shahal *et al.*²⁰, não observaram diferença significativa na aderência bacteriana entre os materiais restauradores e esmalte dentário. Por outro lado, Konishi *et al.*²¹ encontraram diferenças entre materiais como as resinas compostas e o esmalte dentário com relação à

composição bacteriana. Já Auschill *et al.*³ verificaram diferenças na formação do biofilme entre os diversos materiais testados (amálgama, resinas compostas, ouro, compômero e o ionômero de vidro).

A seguir serão expostas as principais características dos materiais restauradores mais utilizados na clínica odontológica que de alguma forma influenciam na aderência bacteriana.

Amálgama

O amálgama dentário é o resultado da combinação de mercúrio com uma liga contendo prata, estanho e cobre, além de zinco e outros elementos em menores proporções.²² O uso do amálgama dental vem decaindo ao longo dos anos, porém, ainda é muito utilizado nas restaurações diretas em dentes posteriores²³; por apresentar fácil manipulação, baixo custo e bom desempenho clínico.²⁴

Evidências *in vitro* mostraram que os metais possuem propriedades antibacterianas como a liberação de íons, sendo capazes de promover a lise de bactérias, porém esse efeito é reduzido quando a superfície do material é coberta por saliva.²⁵ Os íons metálicos são liberados por reações eletroquímicas dentro dos líquidos orais, resíduos de partículas de amalgama e produtos não metálicos da corrosão são deslocados por forças mecânicas na cavidade oral.²⁶

Existe uma aceitação da comunidade científica que o amálgama dental libera mercúrio; o mercúrio é liberado logo após a preparação do amalgama e é reduzido com o passar do tempo, provavelmente devido ao desenvolvimento de uma camada de oxidação que se forma na superfície da restauração.²⁷⁻²⁸

Segundo Marek²⁶ o biofilme oral afeta diretamente o transporte de íons para a superfície da restauração e causa modificações na superfície do metal. A colonização de microorganismos sobre o metal, a produção de metabólitos bacterianos, como os ácidos orgânicos, reduzem o acesso de oxigênio à superfície do metal o que potencializa significativamente o processo de corrosão. Esta é uma reação eletroquímica que resulta na degradação da estrutura e das propriedades mecânicas que com o tempo promovem descoloração.²⁶

Beyth *et al.*²⁹ avaliou propriedades antibacterianas de materiais dentários restauradores como o amálgama e a resina composta, demonstrando o potencial duradouro de propriedades antibacterianas do amálgama; uma vez que este inibiu completamente o crescimento bacteriano por um longo período de tempo. Por outro lado, as resinas exibiram uma redução nesse crescimento, porém por um curto período. Isso explicaria o maior acúmulo de biofilme nas resinas quando comparado com o amálgama.

No entanto, Auschill *et al.*³ acharam, valores zero ou extremamente baixos, com relação à quantidade de bactérias viáveis presentes no biofilme formado sobre materiais como o amálgama, ouro, resinas compostas e cimento de ionômero de vidro, ao contrário das cerâmicas que obtiveram valores altos de bactérias viáveis. Já Hanning *et al.*³⁰ não encontraram evidências de efeito antibacteriano na redução da formação da placa nesses materiais.

Cimento de Ionômero de vidro

Os cimentos de ionômero de vidro (CIV) são materiais que consistem de partículas inorgânicas de vidro dispersas numa matriz insolúvel de hidrogel.³¹ Eles apresentam propriedades importantes como a estética, a biocompatibilidade, a adesividade e a inibição da cárie pela liberação de flúor à estrutura dental, reduzindo o metabolismo e proliferação bacteriana.³² Dentre os materiais fluoretados, os cimentos de ionômero de vidro têm demonstrado maior liberação desse elemento,³³ resultando em atividade antimicrobiana, com efeito bactericida específico para o *S.mutans*, apesar de ser por um curto período de tempo.³¹

O flúor tem a habilidade de modificar os tecidos duros da estrutura dos dentes aumentando a resistência para com os ácidos, prevenindo o crescimento de bactérias nocivas do biofilme exercendo uma ação antibacteriana importante.³⁴ Em baixas concentrações, ele não elimina população bacteriana da cavidade oral, porém, pode modificar o metabolismo bacteriano com a diminuição da produção de ácidos.³⁵

Cáries recorrentes raramente ocorrem ao redor dos ionômeros de vidro, comprovando dessa forma a importância da liberação de flúor.³⁶ Também, segundo Sousa *et al.*³⁷ a proporção e manipulação adequada do ionômero de vidro é fundamental para manutenção de suas características, sendo capazes de inibir a cárie secundária. Svanberg *et al.*³⁶ observaram que a

indução de cárie secundária é mais baixa no ionômero de vidro do que no amálgama e na resina composta.

Entretanto, Naimi *et al.*³⁸ investigaram a liberação de flúor em materiais restauradores e verificou que o aumento dessa liberação nos cimentos de ionômero de vidro, não reduziu a quantidade do crescimento bacteriano. A formação do biofilme nas superfícies desses materiais sugere que o flúor não é um fator dominante no controle da adesão bacteriana. Montanaro *et al.*³² também constataram que a liberação de flúor dos cimentos de ionômeros de vidro não foi capaz de reduzir a aderência bacteriana.

Eick *et al.*³⁹ e Carlen *et al.*⁵ verificaram que um maior valor de rugosidade superficial foi encontrado para o ionômero de vidro; e que o biofilme formado sob esse material, apresentou um alto número de bactérias viáveis, mostrando, dessa forma, que o fluoreto do ionômero de vidro não preveniu a aderência de *S.mutans*. A susceptível degradação dos ionômeros de vidro promove o aumento da rugosidade superficial e conseqüentemente uma maior tendência de acúmulo de bactéria, diminuindo a longevidade dessas restaurações.¹⁵

Resina Composta

A aderência de *S.mutans* é influenciada pela composição da resina composta.³⁶ Alguns componentes como os monômeros não polimerizáveis podem estimular o crescimento de espécies bacterianas.⁴⁰ A carga e matriz das resinas compostas também influenciam o crescimento bacteriano, sendo que, o acúmulo de biofilme varia de acordo com o tamanho da partícula da carga e dos componentes dos monômeros da matriz.⁴¹⁻⁴³

Svanberg *et al.*³⁶ e Moura *et al.*⁴⁴ concluíram que materiais a base de resina composta acumulam maior quantidade de biofilme e este apresenta-se com maior potencial cariogênico quando comparado ao formado sobre o amálgama e materiais ionomêricos. Estudos *in vivo* e *in vitro* apontam a tendência de maior acúmulo de bactérias na placa dental das resinas do que na placa de outros materiais restauradores.^{36, 45, 46}

Existe uma clara correlação entre a superfície rugosa da resina composta e aderência do biofilme.⁵ A rugosidade superficial resulta da diferença de composição entre fase orgânica e inorgânica, autores sugerem que o aumento da rugosidade ocorre devido aos efeitos sobre a

matriz orgânica, enquanto que as partículas de carga inorgânica são essencialmente estáveis e quimicamente inertes (Nagayassu et al.).⁴⁷ Mudanças na composição da matriz orgânica e nas partículas de carga inorgânica têm ocorrido para a melhoria das propriedades mecânicas e comportamento clínico a longo prazo do material.⁴⁸

A adição de nanopartículas resultou na melhoria da rugosidade superficial em relação aos compósitos microparticulados ou microhíbridos.⁴⁹ As resinas nanoparticuladas são compostas por substâncias inorgânicas de dimensões nanométricas, exibindo assim boas propriedades óticas além de uma melhor resistência à tração, quando comparadas com os compósitos convencionais que apresentam partículas de carga de tamanho bem superior.⁵⁰

Para melhorar ainda mais a lisura superficial das resinas compostas, indica-se a realização do polimento da superfície das restaurações. Para este procedimento pode-se utilizar discos, borrachas abrasivas dentre outros materiais.⁵¹

O'Brien *et al.*⁵² verificaram que o uso de pontas de borracha e discos de alumina parecem ser os métodos de polimento e acabamento que alcançam melhores resultados quanto a rugosidade, tanto para resinas convencionais quanto para micro-particuladas. Este fato foi comprovado por Willems *et al.*⁵³, 30% das 60 resinas estudadas tiveram valores de rugosidades abaixo de 0.2 µm após procedimentos de polimentos. Contudo, com o tempo, independente do polimento utilizado, a ação da mastigação e escovação provoca abrasão que resulta em exposição das partículas inorgânicas produzindo uma superfície mais rugosa.⁵⁴

As restaurações de resina composta tendem a se deteriorar com o passar do tempo e alguns autores relacionam este processo à hidrólise do material que ocorre pela presença de ácidos que ocasionam alterações superficiais.⁵⁵ Agentes químicos e físicos no processo de degradação superficial das resinas compostas caracterizam-se clinicamente pelo desgaste e manchamento das restaurações e uma das consequências desse processo é a mudança da rugosidade superficial dos materiais.⁵⁶⁻⁵⁷

Ono⁵⁸ afirmou que a melhoria nas condições da superfície das resinas, conseguida por um polimento cuidadoso, permite uma maior resistência contra a aderência de biofilme. Restaurações de classe II localizadas na margem gengival apresentam uma menor resistência ao acúmulo

bacteriano, por ser geralmente uma área de pouco polimento associado ao difícil acesso de higienização por parte dos pacientes. Assim promovem uma contínua formação do biofilme, tornando essa restauração mais susceptível a microinfiltração e biodegração demonstrando, dessa forma, a relevância de um cuidadoso polimento após a realização das restaurações.

O mesmo não foi visto por Carlen⁵⁹ que constatou que após polimento das resinas houve um aumento da rugosidade superficial explicado pelo aumento significativo de componentes inorgânicos na camada de superfície, onde elementos de partículas de carga foram detectados na superfície somente após o polimento.

Ikeda⁶⁰ avaliou a aderência do biofilme na superfície de dois tipos de resinas compostas, e concluiu que a superfície rugosa e a composição do material influenciam na aderência do biofilme.

Um outro fator que interfere na aderência bacteriana é a contração de polimerização das resinas compostas, uma vez que pode produzir fendas entre o dente e a restauração, sendo que a microinfiltração está fortemente associada com as fendas marginais.⁶¹ De acordo com Lima⁶² a superfície rugosa e a microinfiltração não tem influência na formação de cárie ao redor de restaurações de resina composta, o controle de biofilme teve influencia significativa na desmineralização superficial no esmalte. Entretanto estudos *in vitro* têm associado a presença de cáries secundárias com a microinfiltração.⁶³

Cerâmica

A cerâmica é uma das principais alternativas de tratamento restaurador por ser um material que apresenta excelente estética, possui condutibilidade térmica e elétrica semelhante aos tecidos dentais, apresenta boa resistência a abrasão e degradação no meio oral, boa integridade marginal e biocompatibilidade tecidual. Tais características justificam a sua grande utilização por parte dos profissionais.⁶⁴

Apesar da cerâmica ser considerada o material mais inerte dentre todos os usados nas restaurações, poucas informações estão disponíveis em relação à degradação da superfície após contato com biofilme.³⁻³⁹

A porcelana odontológica convencional é uma cerâmica vítrea que possui como principais componentes minerais cristalinos: feldspato, sílica, quartzo e alumina dispostos em uma matriz vítrea.⁶⁵ Segundo Barreiro *et al.*⁶⁶ a maioria dos materiais cerâmicos são particularmente vidros feldspáticos cristalizados frequentemente reforçados por partículas de alumina, a presença dessas partículas aumenta a corrosão da superfície. Outros tipos de porcelanas dentais, em particular as de baixa fusão, usam uma fina camada de leucita ou múltiplos cristais para reforçar o material.

Segundo Hahnel *et al.*⁶⁷ os diversos tipos de cerâmica apresentam rugosidade superficial e energia livre de superfície distintas mostrando diferença na adesão inicial de streptococcus. A energia livre superficial (ELS), por exemplo, pode influenciar nas características da película adquirida adsorvida e conseqüentemente, as composições da película e do biofilme dentário podem ser diferentes dependendo do tipo de material.⁶⁸ Porém, diferenças na adesão bacteriana não podem ser explicadas levando em consideração exclusivamente parâmetros como rugosidade superficial e energia livre de superfície.⁶⁷

Para cerâmicas odontológicas parece estar estabelecido que o material deva ser adequadamente glazeado antes de sua aplicação na cavidade bucal,⁶⁸ uma vez que cerâmicas não glazeadas tem causado efeitos indesejáveis no tecido periodontal adjacente e são mais suscetíveis a adesão bacteriana.⁶⁹⁻⁷⁰ No entanto, de acordo com Pereira *et al.*⁷¹ superfícies das cerâmicas feldspáticas, metalocerâmicas e cerâmicas livres de metal devem ser glazeadas ou polidas para alcançarem superfícies mais lisas. Nas situações em que é necessário ajustar o material em boca, a rugosidade superficial deve ser minimizada pelo uso de sistemas de polimento intra-oral. Segundo Scotti *et al.*⁶⁵, o uso de brocas diamantadas sobre superfícies cerâmicas deve ser seguido por polimento com pontas de borracha abrasiva, e discos de feltro com pasta diamantada.

Quando a cerâmica é comparada a outros materiais restauradores, observam-se diferentes resultados. No estudo de Eick *et al.*³⁹ foram avaliados a rugosidade superficial, quantidade e a vitalidade de bactérias aderidas em diversos materiais, dentre eles; cerâmica, materiais metálicos, ionômeros de vidro convencionais, ionômeros de vidro modificados por resina e resinas compostas. Verificou-se que a cerâmica apresentou menor rugosidade de superfície e com relação a aderência bacteriana, esta apresentou um menor poder de adesão de streptococcus,

porém a presença de bactérias viáveis foi maior nesse material. Diante dos resultados, os autores não acharam uma relação direta entre a superfície rugosa e o número de bactérias viáveis.

Quando se compara a cerâmica com a resina composta, materiais comumente utilizados em casos estéticos e que apresentam valores de rugosidade adequados, observa-se em longo prazo que as cerâmicas são mais estáveis com relação a suas características superficiais.⁵⁴

De acordo com Konradsson *et al.*⁷² não há diferença na colonização de *S. mutans* quando comparados o esmalte e a cerâmica dentária. Hanning,³⁰ também mostrou não haver diferença micromorfológica da placa recente formada nas cerâmicas e no esmalte dentário.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os materiais dentários apresentam características de superfícies distintas que afetam a formação da película adquirida e subsequente adesão e colonização bacteriana. O amálgama apresenta boa lisura superficial, características antibacterianas, contudo apresenta limitações de uso devido a sua estética inadequada e aumento do desgaste à estrutura dentária. O cimento de ionômero de vidro possui baixa lisura superficial; entretanto, apresenta uma importante propriedade antibacteriana, a liberação de flúor. As resinas compostas apresentam uma menor lisura superficial, porém, quando bem polidas são apropriadas para a utilização. Já as cerâmicas, são materiais vítreos inertes, que apresentam lisura superficial, promovendo conseqüentemente um menor acúmulo de biofilme. Diante disso, verificou-se que a aderência de bactérias é diferente nos diversos materiais, devido principalmente à lisura superficial e a interação de microorganismos com os mesmos.

ABSTRACT

The adhesion of oral bacteria to the biological and artificial surface plays important role in the pathogenesis of oral diseases as caries and periodontitis, presenting surface characteristics and different compositions influencing in the adhesion process. The aim of this study was review aspects to the bacterial adhesion in different dental materials. Many restoratives materials have been discussed like: amalgam, glass ionomer, composed resins and ceramics. The amalgam presents good superficial smoothness, right toxicity and antibacterial characteristics; in the other hand the aesthetics is a limiting factor. The glass ionomer has high superficial roughness intensifying the biofilm accumulation , however its presents a important antibacterial property: a fluor liberation. The composed resins presents inadequate surface smoothness, but when polished become appropriate. the ceramic are inert glass presents great superficial smoothness promoting a less biofilm accumulation. The bacterial adherence among dental materials is different, because of the superficial smoothness and the bacterial interaction with each material.

Palavras Chaves: Biofilm, Materials restoratives, Microorganism.

REFERÊNCIAS

- 1-Nyvad B, Kilian M. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand J Dent Res* 1987, 95(5):369-80
- 2- Lima EMCX, Koo H, Vacca Smith AM, Rosalen PL, Cury AADB. Adsorption of salivary and serum proteins, and bacterial adherence on titanium and zirconia ceramic surfaces. *Clin. Oral Impl. Res* 2008, 19:780-785.
- 3-Auschill TM, Arweiler NB, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci* 2002,110:48-53.
- 4-Theidlade J. Dental plaque and dental calculus. In: LINDHE J, eds. *Textbook of clinical periodontology*. 2nd edition. Munksgaard, Copenhagen 1989: 92-128.
- 5-Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomateriais* 2001, 22:481-487
- 6-Wise MD, Dykema RW. The plaque retaining capacity of four dental materials. *J.Prosthet.Dent* 1975, 33(2):178-190.
- 7-Pratt-Terpstra IH, Weerkamp AH, Busscher HJ. Adhesion of oral streptococci from a flowing suspension to uncoated and albumin-coated surfaces. *J Gen Microbiol* 1989,133(11):3199-206
- 8-Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 1995, 22(1):1-14.
- 9- Mjor IA, Toffenetti F. Secondary caries: a literature review with case reports. *Quintessence Int* 2000, 31(3):165-179
- 10- Satou J, Fukunaga A, Morikawa A, Matsumae I, Satou N, Shintani H. Streptococcal adherence to uncoated and saliva-coated restoratives. *J Oral Rehabil* 1991, 18(5):421-429.
- 11- Murray PA, Prakobphol A, Lee T, Hoover C, Fisser S. Adherence of oral streptococci to salivary glycoproteins. *Infect Immun* 1992, 60:31-38.
- 12- Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, Van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man. *J Clin Periodontol* 1990, 17(3):138-144.
- 13- Keenan MP, Shillingburg HTJR, Duncanson MGJR, Wade CK. Effects of cast gold surface finishing on plaque retention. *J Prosthet Dent* 1980, 43(2):168-173.

- 14- Curtiss R. Genetic analysis of *Streptococcus mutans* virulence and prospects for an anticaries vaccine. *J Dent Res* 1986, 65(8):1034-1045
- 15-Fúcio SBP, Carvalho FG, Sobrinho LC, Sinhoreti MAC, Puppim-Rontani RM. The influence of 30-days-old *Streptococcus mutans* biofilm on the surface of esthetic restorative materials – A in vitro study. *J Dent* 2008, 36:833-839.
- 16-Nassar U, Meyer AE, Olge RE, Baier RG. The effect of restorative and prosthetic materials on dental plaque. *Periodontology* 1995, 8:114-124
- 17-Gatewood RR, Cobb CM, Killoy WJ. Microbial colonization on natural tooth structure compared with smooth and plasma-sprayed dental implant surfaces. *Clin Oral Implants Res* 1993, 4(2):53-64.
- 18-Keenan MP, Shillingburg HTJR, Ducanson MGJR, Wade CK. Effects of cast gold surface finishing on plaque retention. *J Prosthet Dent* 1980, 43(2):168-173.
- 19- Roulet JF, Roulet-Mehrens TK. The surface roughness of restorative materials and dental tissues after polishing with prophylaxis and polishing pastes. *J Periodontol* 1982, 53:257-266
- 20-Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z, Bronshteyn M, Kopolovic K. In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil* 1998, 25(1):52-58.
- 21-Konishi N, Torri Y, Kurasaki A, Takatsuka T, Itota T, Yoshiyama M. Confocal laser scanning microscopic analysis of early plaque formed on resin composite and human enamel. *J Rehabil* 2003, 30:790-795.
- 22-Berglund, A. Release of mercury vapor from dental amalgam. *Swed Dent. J Suppl* 1992, 85:1-52.
- 23-Mitchell RJ, Koike M, Okabe T. Posterior amalgam restorations-usage, regulation, and longevity. *Dental clinics of North America* 2007, 51:537-589.
- 24-Gradela R, Centola ALB, Nascimento TN. Polimento de restaurações com amálgama. *Rev Fac Odontol Lins* 1992, 5(2):28-31.
- 25-Leonhardt A, Olsson J, Dahlen G. Bacterial Colonization on Titanium, Hydroxyapatite, and Amalgam Surfaces in vivo. *J Dent Res* 1995, 74(9):1607-1612.
- 26- Marek M. The release of mercury from dental amalgam: mechanism and in vitro testing. *J Dent Res* 1990, 69: 1167-1174.
- 27- Brune D. Corrosion of amalgams. *Scand J Dent Res* 1981, 89:506-514.
- 28- Marek M. Acceleration of corrosion of dental amalgam by abrasion. *J Dent Res* 1984, 63:1010-1013.

- 29- Beyth N, Abraham JD, Ervin IW. An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent* 2007, 35:201-206.
- 30- Hanning M. Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. *Eur J Oral Sci* 1999, 107:55-64
- 31- Fook ACBM, Azevedo VVC, Barbosa WPF, Fideles TB, Fook MVL. Materiais odontológicos: Cimentos de Ionômero de vidro. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos* 2008, 31:40-45.
- 32-Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschil L, Prati C, Arciola CR. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomaterials* 2004, 25:4457-4463.
- 33-Paulillo LA, Covadazzi JL, Lovadino JR, Serra MC. Surface finishing of glass ionomer. *Am J Dent* 1997, 10(3):137-140.
- 34- Shani S, Friedman M, Steinberg D. The anticariogenic effect of amine fluorides on *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase in biofilms. *Caries Res* 2000, 34(3):260-267.
- 35- Van Loveren C. The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res* 1990, 69: 676-81.
- 36- Svanberg M, Krasse B. Comparative recovered of Mutans Streptococci on Two Selective Media. *Caries Res* 1989, 24:36-38
- 37- Souza RP, Zanin ICJ, Lima JPM, Vasconcelos SMLC, Melo MAS, Beltrão HCP, Rodrigues LKA. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralisation. *J Dent* 2009;1(37):1-92.
- 38- Naimi A, Itota T, Hobson RS, McCabe JF. Fluoride release for restorative materials and its effect on biofilm formation in natural saliva. *J Mater Sci Mater Med* 2008, 19(3):1243-1248.
- 39- Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system. *J Oral Rehabil* 2004, 31:278-285
- 40- Hansel C, Leyhausen G, Mai UE, Geurtsen W. Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated micro-organisms in vitro. *J Dent Res* 1998, 77(1):60-67.
- 41- Imazato S, Torn M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russel RR. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res* 1994, 73:1437.
- 42-Takahashi Y, Imazato S, Russell RR, Noiri Y, Ebisu S. Influence of resin monomers on growth of oral streptococci. *J Dent Res* 2004, 83:302-306.

- 43- Hashimoto K, Yamamoto H. Influence of composite resin components on adherence of oral streptococci. *J Conservative Dent* 1998, 41:1-15
- 44- Moura JS, Lima Em, Paes Leme AF, Cury AA, Tabchoury CP, Cury JÁ. Effect of luting cemento on dental biofilm composition and secondary caries around metallic restoration in situ. *Oper Dent* 2004, 29:509-514.
- 45- Skjorland KKR, Sonju T. Effect of sucrose rinses on bacterial colonization on amalgam and composite. *Acta Odontol Scand* 1982, 40:193-196
- 46- Weitman RT, Eames WB. Plaque accumulation on composite surfaces after various finishing procedures. *J Am Dent Assoc* 1975, 91:101-106.
- 47- Nagayassu MP, Umetsubo LS, Barbosa SH, Valera MC, Araujo MAM. Rugosidade superficial de resinas compostas. *RGO* 2003, 51(21):89-94.
- 48- Okubo SR, Kanawati A, Richards MW, Childress S. Evaluation of visual and instrument shade matching. *J Prosthet Dent* 1998, 80(6):642-648.
- 49- Mitra SB, Wu D, Holmes B. Na application of nanotechnology in advanced dental materials. *Am Dent Assoc* 2003, 134(10):1382-1390.
- 50- Taylor RL, Verran J, Lees GC, Ward AJ. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. *Mater Sci Mater Med* 1998, 9(1):17-22.
- 51- Ribeiro BCI, Oda M, Matson E. Avaliação da rugosidade superficial de três resinas compostas submetidas a diferentes técnicas de polimento. *Pesqui Odontol Bras* 2001, 15(3).
- 52- O'Brien WJ, Johnston WN, Fanian F, Lambert S. The surface roughness and gloss of composites. *J Dent Res* 1984, 63(9-10):685-688.
- 53- Willems G, Lambrechts P, Braem M, Celis JP, Vanherle G. A classification of dental composites according to their morphological and mechanical characteristics. *Dent Mater* 1992, 8:310-319
- 54- Wet FA, Ferreira MR. Dental glazes: surface roughness and plaque accumulation. *Quintessence Int* 1980, 9:127-135.
- 55- Araujo RM, Valera MC, Araujo MAM, Borges ALS. Avaliação da rugosidade superficial de restaurações estéticas submetidas ao selamento de superfícies e agente clareador. *J Bras Clin Estet Odontol* 2002, 6(36):478-483.
- 56- Sulong MZ, Aziz RA. Wear of materials used in dentistry: A review of literature. *J Prosthet Dent* 1990, 63(3):342-349.

- 57- Kao EC. Influence of food-simulating solvents on resin composites and glass-ionomer restorative cement. *Dent Mater* 1989, 5:201-208.
- 58- Ono M, Nikaido T, Ikeda M, Imai S, Hanada N, Tagam M, Matin K. Surface Properties of Resin Composite Materials Relative to Biofilm Formation. *Dent Mater* 2007, 26(5):613-622.
- 59- Carlen A, Nikdel K, Wennerberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials* 2001, 22:481-487.
- 60-Ikeda M, Matin K, Nikaido T, Foxton RM, Tagami J. Effect of surface characteristics on adherence of *S.mutans* Biofilms to indirect Resin Composites. *Dent Mater J* 2007, 26(6):915-923.
- 61-Boeckh C, Schumacher E, Podbielski A, Haller B. Antibacterial activity of restorative dental biomaterials in vitro. *Caries Res* 2002, 36(2):101-107.
- 62- Lima GF, Romano RA, Correa MB, Demarco FF. Influence of microleakage, surface roughness and biofilm control on secondary caries formation around composite resin restorations: an in situ evaluation. *J.Appl. Oral Sci* 2009, 17(1).
- 63-Fontana M, González-Cabezas C. Secondary caries and restoration replacement: na unresolved problem. *Compend Contin Educ Dent* 2000, 21(1): 15-26
- 64-Conceição EM. *Dentística-Saúde e Estética*.2.ed.São Paulo/;Artes Médicas,2007.
- 65- Scotti R, Zanini Kantorski K, Scotti N, Monaco C, Valandro LF, Bottino MA. Early biofilm colonization on polished- and glazed-zirconium ceramic surface. Preliminary results. *Minerva Stomatol* 2006, 55(9):493-502.
- 66- Barreiro MM, Riesgo O, Vicente EE.Phase identification in dental porcelains for ceramo-metallic restorations. *Dent Mater* 1989, 5(1):51-57.
- 67-Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Burgers R. Surface characterization of dental ceramics and initial streptococcal adhesion in vitro. *Dent Mater*2009, 25:969-975.
- 68-Barghi N, Alexander L, Draughn RA. When to glaze- an electron microscope study. *J Prosthet Dent* 1976, 35:648-53.
- 69- Swartz ML, Philli RW. Comparison of bacterial accumulation on rough and smooth enamel surfaces. *J Periodontol* 1957, 28:304-307
- 70-Caputo AA. Biological implications of dental materials. *Dent Clin North Am* 1980, 24(2):331-341.
- 71- Pereira SMB, Kantorski KZ, Brentel AS, Valandro LF, Bottino MA. SEM Analysis of the in situ Early Bacterial Colonization on Two Novel Feldspathic Ceramics Submitted to Different Types of Glazing. *J Contemp Dent Pract* 2008, 9(2):1-7.

72-Konradson K, Van Dijken JWV. Effect of novel ceramic filling material on plaque formation and marginal gingival. *Acta Odontol Scand* 2002, 60:370-374.

**Avaliação da rugosidade superficial e adesão de
Streptococcus mutans em três cerâmicas de revestimento.**

Carine Schitini Pinheiro d'Almeida Monteiro

Orientadora: Profa. Dra. Emilena Maria Castor Xisto Lima

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Robato Nunes

Salvador-Ba

2010

RESUMO:

INTRODUÇÃO: As características físico-químicas das cerâmicas, dentre elas a rugosidade superficial pode afetar a adesão e colonização bacteriana. **OBJETIVO:** Avaliar a rugosidade superficial e a aderência de *Streptococcus mutans* em três cerâmicas de revestimento: Star-Light (Dentsply), Ex-3 (Noritake) e VM13 (VITA Zahnfabrik). **METODOLOGIA:** Foram confeccionados 72 corpos de prova de três cerâmicas de revestimento e divididos em 2 grupos: glaze e polimento. Os corpos de prova foram submetidos à leitura da rugosidade superficial em rugosímetro SJ 301 (Mitutoyo, Japão). Para análise da aderência bacteriana, foi formada uma película adquirida com saliva humana e as amostras foram incubadas em 3mL de suspensão bacteriana de *Streptococcus mutans* durante 2hs a 37°C. A contagem das unidades formadoras de colônias foi realizada 48hs após a semeadura da cultura bacteriana. **RESULTADOS:** Foi aplicado o teste t de Student para comparações entre o glaze e polimento e o teste de Tukey para avaliação do glaze e polimento entre as diferentes cerâmicas avaliadas em relação à rugosidade superficial e aderência bacteriana. Houve diferença estatisticamente significativa quando da comparação da rugosidade superficial entre os grupos glaze e polimento para as três cerâmicas. Com relação ao número de células de *S. mutans* aderidas, observou-se diferença estatisticamente significativa apenas na cerâmica EX-3 quando se comparou o grupo teste com o controle. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as cerâmicas no grupo teste. **CONCLUSÃO:** Existe associação positiva significativa, porém discreta, entre a rugosidade superficial e aderência de *S. mutans*. As cerâmicas apresentaram padrão de aderência bacteriana similar, com exceção da cerâmica EX-3.

Palavras Chaves: Cerâmica, Biofilme, *Streptococcus mutans*

5. INTRODUÇÃO

Na atualidade a estética do sorriso é estudada de forma intensiva, resultado da demanda crescente de pacientes à procura do sorriso harmonioso com excelentes padrões de beleza. Neste contexto, a utilização de materiais que se assemelhem ao dente, em suas características estéticas, como a cerâmica, vem sendo difundida.¹

Além da reprodução das características estéticas do elemento dentário, as propriedades físico-químicas das cerâmicas como a sua baixa condutibilidade térmica e elétrica, resistência a degradação no meio oral, integridade marginal e biocompatibilidade tecidual fazem da cerâmica um material de grande valor para o tratamento restaurador.²

Contudo, embora as cerâmicas apresentem excelentes características, elas não são capazes de reproduzir fielmente a superfície dental. Essa diferença entre os materiais dentários e a superfície do esmalte dental afeta a formação da película adquirida e subsequente adesão e colonização bacteriana.³⁻⁴ A formação do biofilme oral é determinada pela estrutura de superfície do dente, portanto, superfícies artificiais alteram a deposição microbiana na cavidade oral.⁵

Todas as superfícies não descamativas da cavidade oral, artificiais ou biológicas, podem ser nichos propícios para o desenvolvimento e crescimento dos microrganismos. A adesão do biofilme pode ser afetada pelas características físico-químicas dos materiais⁶, dentre elas: distância da bactéria na superfície, forças iônicas presente no meio líquido circundante, energia livre de superfície e a rugosidade superficial.⁷⁻⁸

Entre estes aspectos, a rugosidade superficial, é um fator de grande importância, pois resulta em uma área propícia, promovendo nichos nos quais as bactérias se protegem das forças de cisalhamento.⁹ O início da colonização bacteriana se dá nas fissuras e depressões do esmalte, o que sugere a relevância da estrutura de superfície nesse processo.⁵

A formação do biofilme oral dada pela adsorção de componentes da saliva, exudatos gengivais e produtos bacterianos é o primeiro passo para a aderência bacteriana.¹⁰⁻¹¹ A adesão do *S.mutans* na superfície é dada a partir da película adquirida, via adesinas e produção de polissacarídeos extracelulares na presença da sacarose.¹²

Os *Streptococcus mutans* são associados à doença cárie e estão presentes no biofilme oral desde o início da sua formação. Diante disso, o acúmulo de biofilme leva ao surgimento de lesões cáries secundárias, sendo esta a principal razão para substituição das restaurações.¹³ Portanto, é recomendável o uso de materiais restauradores que acumulem a menor quantidade possível de microorganismos na superfície ou iniba sua adesão através de suas propriedades físicas.⁹

Existem no mercado tipos diversos de cerâmicas que apresentam propriedades de superfície variadas. A referida variação atua diretamente sobre a adesão inicial e multiplicação bacteriana, o que pode resultar ou não na formação de biofilme oral mais cariogênico.¹²

Com o intuito de gerar conhecimento sobre as cerâmicas estudadas e nortear a atividade clínica reabilitadora, este estudo tem o objetivo de avaliar a rugosidade superficial e a aderência de *Streptococcus mutans* em cerâmicas de recobrimento: VM13 (VITA Zahnfabrik), EX-3 (Noritake) e Star-Light (Dentsply).

6. MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Bahiana de Medicina e Saúde Pública, sob protocolo de número 019/2010 (Em anexo).

6.1 Confeção dos corpos de prova

Os corpos de prova cerâmicos foram confeccionados utilizando uma matriz retangular de alumínio com 10 cm de comprimento, 3 cm de largura e 0,2cm de espessura, possuindo 5 perfurações medindo 0,12cm de diâmetro interno por 0,2cm de espessura (figura 1).



Figura 1 - Matriz metálica utilizada para confecção dos corpos de prova

Foram confeccionados 72 corpos de prova, 24 da cerâmica de recobrimento VM13 (VITA Zahnfabrik, Bad Sackingen, Alemanha), 24 da EX-3 (Noritake, Kizai Co., Limited, Miyoshi, Japão) e 24 da Star-Light (Dentsply, Ind.e.Com. LTDA, Rio de Janeiro, Brasil). Para todas as cerâmicas, o pó cerâmico foi incorporado à água destilada e manipulado até se atingir a consistência em massa, de acordo com a indicação do fabricante. Em seguida, esta massa foi levada, com auxílio de uma espátula, às perfurações da matriz até o seu completo preenchimento. Após a remoção dos excessos de água com papel absorvente, os corpos de prova foram removidos das perfurações por compressão digital suave, tomando-se cuidado para que não ocorresse fratura, e posteriormente levados ao forno VACUMAT 40T (VITA Zahnfabrik, Alemanha) para queima (figura 2). Foram confeccionados apenas 5 corpos de prova por período de queima de acordo com as instruções do fabricante.



Figura 2 - Forno VITA VACUMAT 40T

Os corpos de prova foram lixados com o intuito de uniformizar as superfícies que apresentavam algumas irregularidades. Para isto, as amostras foram fixadas com cera pegajosa (ASFER – Indústria Química LTDA, SP, Brasil) em dispositivos de acrílico, e foram utilizadas

lixa d'água 80, 100, 150, 240, 600 sob refrigeração em Politriz Aropol 2V (Arotec, São Paulo, Brasil) (figura 3).



Figura 3 - Politriz Aropol 2V (AROTEC)

6.2 Avaliação da rugosidade superficial

Os corpos de prova foram colocados em Ultra-som (THORNTON, modelo T740, Impec Eletrônica Ltda., SP, Brasil) com água destilada durante 10 minutos para remoção dos resíduos de suas superfícies. Em seguida, foram secos com papel absorvente para posterior leitura da rugosidade superficial.

Cada amostra, previamente numerada, foi submetida à leitura no rugosímetro (SJ-301, Mitutoyo – Japão) para determinação da rugosidade superficial (figura 4) com o objetivo de observar a uniformidade entre as amostras.

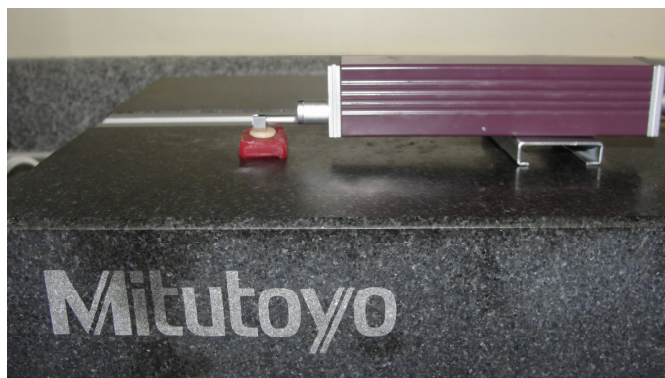


Figura 4 - Leitura da rugosidade superficial

O valor considerado foi a média aritmética (R_a) entre os picos e vales percorridos pela ponta ativa do aparelho, onde o percurso de medição foi de 1,5mm, com comprimento de onda de 0,8mm. A média obtida para cada corpo de prova correspondia a três leituras, uma realizada no sentido do diâmetro do corpo de prova, outra perpendicular à primeira leitura e a última no sentido oblíquo à primeira. Após a realização da leitura da rugosidade superficial, as amostras foram divididas em 6 grupos com 12 corpos de prova cada (quadro 1).

6.3 Divisão dos grupos

GRUPOS	CERÂMICAS
01 (Glaze)	VM13 (n=12)
02 (Glaze)	Ex-3 (n=12)
03 (Glaze)	Star-Light (n=12)
04 (Polimento)	VM13 (n=12)
05 (Polimento)	EX-3 (n=12)
06 (Polimento)	Star-Light (n=12)

Os grupos 1, 2 e 3 constituem os grupos controles contendo 12 corpos de prova que foram submetidos ao glaze e os grupos 4, 5 e 6 constituem os grupos testes, os quais foram submetidos ao acabamento e polimento.

6.4 Desgaste simulando o ajuste oclusal:

As amostras dos grupos 4, 5 e 6 sofreram desgaste superficial com ponta diamantada 2135 F (KG Sorensen, Baureri, SP, Brasil) para simular o ajuste oclusal. A peça de mão de alta rotação (Kavo do Brasil Ind.Com.LTDA, Joinville, SC, Brasil) foi posicionada em um suporte confeccionado com silicona de adição para execução de movimentos uniformes e o desgaste do corpo de prova foi realizado por um mesmo operador com mesma intensidade de força em todos os corpos de prova durante 10 segundos, com refrigeração ar/água. Uma mesma ponta diamantada foi usada para 05 corpos de prova e em seguida descartada (figura 5).



Figura 5 - Desgaste simulando o ajuste oclusal

6.5 Polimento das amostras

Os grupos 4, 5 e 6 receberam acabamento com borrachas abrasivas (Sistema Shofu Porcelain Laminate Polishing, Japão), composto pelas borrachas CERAMISTÉ STANDART, utilizada para o pré-polimento, a ULTRA para o polimento e ULTRA II para polimento de alto brilho. Em seguida, foi utilizado para o polimento disco de feltro diamond (FGM, Joinville, SC, Brasil) e pasta diamantada (Diamond Excel, FGM, Joinville, SC, Brasil), realizando movimentos leves de vai-vem durante 15 segundos na região do corpo desgastada.

6.6 Avaliação da rugosidade superficial

Em seguida, após glazeamento nos grupos controles e acabamento e polimento nos grupos testes, os corpos de prova foram novamente submetidos à leitura da rugosidade superficial como descrito anteriormente.

6.7 Determinação da Curva de crescimento

Uma linhagem padrão de *S. mutans* (UA159), foi incubada em microaerofilia, utilizando-se jarra de anaerobiose (JA 0401-Termution, Curitiba, PR, Brasil) em estufa bacteriológica (K-316B, Quimis Aparelhos Científicos LTDA, Diadema, São Paulo, Brasil) a 37°C, por 48 horas. Em seguida foi realizada coloração de Gram com o objetivo de verificar a pureza da cultura.

Alíquotas de 4 ml de caldo soja tripticase (TSB) acrescido de 1% de sacarose (012273, laboratório VETEC, Ribeirão Preto- SP-Brasil) foram utilizadas nas lavagens das placas para remoção do tapete bacteriano com auxílio de alça Drigalski. A suspensão bacteriana recuperada foi submetida a mensuração de sua densidade óptica em espectrofotômetro (DO_{625nm}) (Ssi Uv 2101, Quimis Aparelhos Científicos Ltda, Diadema, SP, Brasil) e diluída até atingir valores entre 0,550- 0,650.

Uma alíquota de 1 ml desta suspensão foi diluída 20 vezes em caldo soja tripticase (TSB) com 1% de sacarose, seguindo-se de incubação a 37°C, por 36 horas, em microaerofilia. A densidade óptica desta cultura bacteriana foi então medida, ajustada para 0,990 - 1,090, diluída 8 vezes em TSB com 1% de sacarose e distribuída em tubos de ensaio contendo TSB, com 1% de sacarose.

A cada 2 horas foram realizadas leituras, em duplicata, em DO_{625nm} . Com os valores de densidade óptica obtidos foi construído gráfico representativo da curva de crescimento na tentativa de estabelecimento das fases *lag*, *log* e estacionária (gráfico 1).

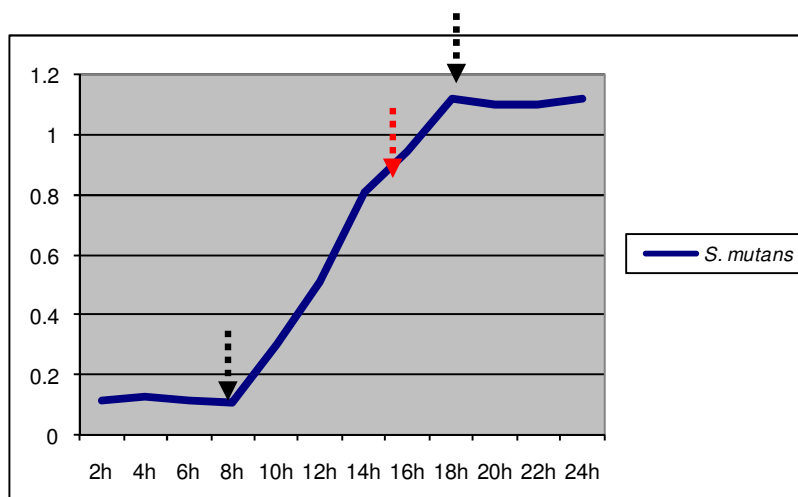


Gráfico 1- Curva de crescimento das amostras de *S. mutans*.

Setas tracejadas pretas indicam o início e final de fase *log*. Seta tracejada vermelha indica a fase de crescimento da cultura utilizada no ensaio de adesão.

6.8 Preparo do Inóculo Bacteriano

Alíquotas de 100µl dos estoques das amostras de *S. mutans* foram em ágar soja tripticase (TSA) acrescido de 1% de sacarose. Após 24 horas de incubação em microaerofilia, as placas foram submetidas à lavagem com 4 ml de caldo e a DO_{625nm} ajustada para 0,550-0,650. As culturas foram incubadas por 30 horas em microaerofilia, a 37°C e a DO_{625nm} ajustada para valores entre 0,990 -1,090. As suspensões foram então diluídas 8 vezes, aliquotadas e incubadas por 14 horas. Após incubação, a cultura bacteriana foi ajustada para 0,450-0,550 (DO_{625nm}) e posteriormente diluída em série (1:1000000 e 1:10000000).

6.8 Ensaio de adesão bacteriana

Para o ensaio de adesão bacteriana, os corpos de prova foram posicionados em uma alça confeccionada com fio ortodôntico (0,5mm) para propiciar a completa imersão das amostras na saliva e suspensão bacteriana, impedindo o contato direto com as paredes da placa de 24 poços (Bioststems, modelo 92024) (figura 6).



Figura 6- Corpo de prova fixado na alça

Foi coletada saliva humana estimulada de cinco voluntários saudáveis do sexo masculino, com idade entre 28 e 35 anos, livres de doença periodontal e cárie. O *pool* de saliva obtido foi submetido à centrifugação a 10.000 xg, 4 °C, por 30 minutos da centrífuga (modelo CT-500R - CIENTEC equipamentos para laboratórios) e esterilizada por filtração (Vakuum Filtrationssystem). O sobrenadante foi aquecido a 60 °C, por 30 minutos, para inativação de enzimas de degradação. A coleta de saliva foi aliqüotada em tubos de microcentrífuga e armazenados em freezer a -20 °C.

O *pool* de saliva foi descongelado em banho de gelo e 2 ml de saliva foram adicionados aos espécimes de cerâmica posicionados nas placas de 24 poços para formação da película adquirida. As placas foram então incubadas, por 1 hora, a 37 °C.

Os corpos de prova foram incubados em 3 ml de suspensão bacteriana de *S. mutans* por 2 horas, a 37° C em microaerofilia (figura 7) e em seguida, foram lavados com 1 ml de solução de fosfato de potássio tamponada (PBS) (2,7mM KCL, 137mM NaCl,4,3mM Na₂HPO₄. 7H₂O, 1,4mM KH₂PO₄ e H₂O) para remoção de microrganismos superficiais não aderidos. Os corpos

de prova foram então colocados em tubos plásticos de 15 ml acrescido de 1 ml de solução tamponada de PBS esterilizada e sonicados em cuba ultrassônica (Thornton, modelo T740, Impec Eletrônica Ltda., SP, Brasil) por 15 segundos com o objetivo de remover os microrganismos aderidos nas superfícies (figura 8).



Figura 7 - Corpos de prova em suspensão bacteriana

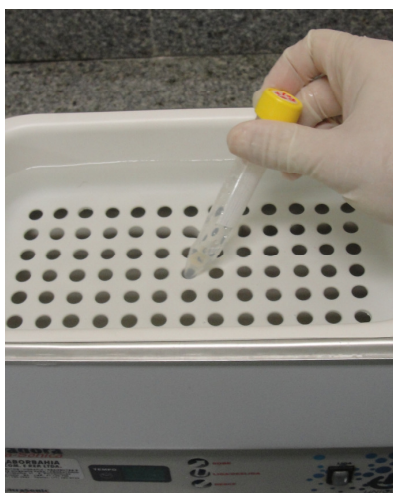


Figura 8 - Corpos de prova sendo sonicado

O sobrenadante recuperado de cada uma das amostras foi diluído em série (1:10.000 e 1:100.000) e alíquotas de 100 microlitros foram semeadas, em duplicatas, em TSA (60733061 – BD, Becton Dickinson and Co. Le- Ponti de Claix-França), acrescido de 1% de sacarose, seguindo-se a incubação por 48 horas em atmosfera de microaerofilia. As colônias foram contadas e o número de UFC/ml estimado.

7. RESULTADOS

Neste estudo, comparou-se a rugosidade superficial e adesão de *Streptococcus mutans* em três cerâmicas de revestimento. Os valores de rugosidade superficial e aderência bacteriana foram submetidos à análise de variância a um critério (ANOVA). Em seguida foi aplicado o teste t de Student para comparações entre o glaze e polimento e o teste de Tukey para avaliação do glaze e polimento entre as diferentes cerâmicas avaliadas em relação à rugosidade superficial e aderência bacteriana no programa Software SPSS (versão 13.0 para Windows). O nível mínimo de significância adotado foi de 5%.

Na tabela 1 estão representados os valores das médias de rugosidade superficial, em μm , e os desvios padrão (Dp) para as cerâmicas VM13, EX-3 e STAR-LIGHT no grupo controle, onde foi aplicado o glaze e no grupo teste submetido ao polimento, utilizando o sistema SHOFU.

Tabela 1. Médias e desvios padrão da Rugosidade superficial (em μm) nos diferentes grupos de estudo-

Materiais	Rugosidade superficial	
	Cerâmicas	Glaze
VM13	0,48 \pm (0,13) ^{aA}	1,29 \pm (0,26) ^{bB}
EX-3	0,62 \pm (0,12) ^{aA}	1,49 \pm (0,22) ^{bB}
STAR-LIGHT	0,69 \pm (0,08) ^{aA}	1,26 \pm (0,31) ^{bB}

Letras maiúsculas distintas foram atribuídas quando foi observada diferença estatisticamente significativa na comparação entre o glaze e o polimento em cada linha. As letras minúsculas distintas foram atribuídas quando foi observada diferença estatisticamente significativa na comparação em cada coluna entre as diferentes cerâmicas nos grupos controle e teste. (P<0.05, ANOVA, teste t de student, teste tukey).