

LUCAS COSTA DE MEDEIROS DANTAS

EFEITO DAS TÉCNICAS DE FINALIZAÇÃO E MANIPULAÇÃO DE RESINA
ACRÍLICA NA ADESÃO BACTERIANA E RUGOSIDADE SUPERFICIAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

Orientador: Prof. Dr. Adérito Soares da Mota

Uberlândia

2011

LUCAS COSTA DE MEDEIROS DANTAS

EFEITO DAS TÉCNICAS DE FINALIZAÇÃO E MANIPULAÇÃO DE RESINA
ACRÍLICA NA ADESÃO BACTERIANA E RUGOSIDADE SUPERFICIAL

Orientador: Adérito Soares da Mota

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Adérito Soares da Mota

Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto

Profa. Dra. Valéria Oliveira Pagnano de Souza

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

FEVEREIRO - 2011

Dedicatória

DEDICATÓRIA

Aos meus pais **Lúcio e Josenita**,

Principais incentivadores e exemplos da minha vida, sempre me apoiaram, incentivaram e não mediram esforços para fazer tudo que estava ao seu alcance. Amo vocês! E agradeço a Deus todos os dias a família que tenho.

Aos meus irmãos **Jorge e Lia**, pelo amor, carinho, amizade, respeito e exemplo em todos os momentos, privando-se de muitas coisas para que eu pudesse conseguir vencer mais esta etapa. Obrigado, amo vocês!

À minha avó **Juraci**, pelo amor que sempre me deu, infelizmente não assistiu o fim de mais essa etapa da minha formação, mas sempre torceu pra tudo dar certo.

À minha família e àqueles que sempre me apoiaram durante esses anos, tornando possível a realização desta etapa na minha vida.

Agradecimientos

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, pela saúde da minha família e de todos que me cercam.

Ao **Prof. Dr. Adérito Soares da Mota**, por me aceitar como orientado no Mestrado, pelos ensinamentos transmitidos, pela confiança incondicional depositada sempre no meu nome, pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional, desafios e cobranças diárias, deixando em minha mão tantas clínicas de graduação. Mas acima de tudo, pelo carinho durante esses dois anos, pois estando longe da minha família por tanto tempo, tornou-se uma grande referência para mim. Espero manter a relação de amizade nas próximas fases da minha vida. Muito obrigado!

Ao **Prof.Dr. Flávio Domingues das Neves**, por me permitir realizar o sonho de fazer Mestrado, pelos ensinamentos transmitidos, por ser o espelho de um futuro ao qual sonho trilhar, pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional. Espero que possamos sempre manter essa relação de amizade. Meu muito obrigado!

À **Faculdade de Odontologia de Uberlândia** em nome do Reitor **Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto** pelo acolhimento nesses dois anos de Mestrado, tornando-se minha casa pela qual terei sempre um eterno carinho.

Ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia**, por todas as oportunidades oferecidas.

À **Área de Oclusão, Prótese Fixa e Materiais Odontológicos**, pela recepção e acolhimento durante esses anos.

Ao **Prof. Dr. Alfredo Júlio Fernandes Neto**, exemplo de mestre, dedicação e amor pelo ensino e pelas coisas as quais acredita. Agradeço pela receptividade, acolhimento, atenção desde a minha chegada em Uberlândia.

Ao **Prof. Dr. Carlos Soares**, exemplo de dedicação, persistência, trabalho, liderança e que com força de vontade e amor ao que fazemos podemos chegar a qualquer lugar. Obrigado pela disponibilidade, ensinamentos, carinho e confiança depositada em mim.

À **Escola Técnica de Saúde**, em especial ao **Curso Técnico em Saúde Bucal** que tive a oportunidade de fazer parte do corpo docente. Agradeço a oportunidade profissional, o acolhimento e a compreensão. Obrigado à **Profa. Samara, Profa. Inês, Profa. Ludmila** e aos **alunos** que compartilharam comigo essa ótima experiência.

Ao **Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA)** da **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ / USP)** onde foram realizadas as microscopias.

Ao **Laboratório de Materiais Dentários** da **Faculdade de Odontologia de Piracicaba** (FOP/Unicamp) onde foram realizadas algumas etapas do experimento e onde, com muito orgulho, passarei grande parte do meu tempo a partir deste ano.

À **Talita Dantas, Lucas Zago e João Paulo Neto** pela realização do trabalho em conjunto, trocando experiências e conhecimento.

A **João Paulo** amigo de longa data, o qual me considero um irmão e que me apresentou a esta maravilhosa família que é a Faculdade de Odontologia de Uberlândia.

A **João Paulo Lyra e George** que durante, principalmente o último ano do curso se tornaram minha família em Uberlândia, companheiros de todas as horas, festas, estudo, discussões. Sempre bom ter vocês por perto.

A **Luís Raposo** que me recebeu de forma fantástica, me levando pra sua casa, para sua família assim que cheguei. Nunca vou esquecer.

À **Mabel** que aguentou muito nervosismo, me fez companhia, ofereceu carinho em um momento muito importante da minha vida. Muito importante para mim.

Ao **Prof. Dr. Paulo Vinícius** amigo e professor que sabe de forma incrível conciliar a vida profissional e social sem prejudicar nenhuma das duas, pelo contrário, se tornando uma pessoa admirável.

Aos **Prof. Dr Paulo Quagliato** e **Prof Dr. Denildo** pelo acolhimento e palavras de incentivo.

À **Wilton, Susy, Graça** e **Abigail** que facilitam tanto a vida dos estudantes que passam pela Faculdade.

Aos Professores da Área de Oclusão, Prótese Fixa e Materiais Odontológicos, **Alfredo, Flávio, Márcio Teixeira, Ricardo, Célio e Marlete**.

Aos professores **Paulo César Santos Filho, Murilo Menezes, Veridiana Novais Simamoto e Paulo Simamoto** pela amizade e incentivo.

Aos amigos **Bruno Reis, Bruno Barreto, Gabriela Mesquita, Rodrigo Dantas, Germana Camargos, Fabiane Maria, Andréa Dolores, Marininha, Karla Zancopé, Thiago Stape, Maiolino, Crisnicaw, Morgana, Analice** e todos os amigos que fiz no Mestrado.

Aos **alunos da Graduação** que me ajudaram bastante no meu aprendizado durante as clínicas e laboratórios que acompanhei.

“Eu acredito demais na sorte. E tenho constatado que, quanto mais duro eu trabalho, mais sorte eu tenho.”

Thomas Jefferson

Sumário

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO	17
REVISÃO DE LITERATURA	21
OBJETIVOS	26
<i>Geral</i>	27
<i>Específicos</i>	27
MATERIAIS E MÉTODOS	29
<i>Confecção dos corpos de prova</i>	29
<i>Avaliação da adesão bacteriana</i>	33
<i>Teste de Rugosidade Superficial</i>	34
RESULTADOS	36
<i>Contagem de UFCs</i>	37
<i>Rugosidade Superficial</i>	41
<i>Análise da Adesão de UFC em relação à rugosidade superficial</i>	42
DISCUSSÃO	44
CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

Lista de Abreviaturas

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI – Brain Heart Infusion (Solução de crescimento Bacteriano)

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

PBS – Phosfatated Buffer Solution (Solução Fosfatada Salina)

PMMA – Polimetil Metacrilato

Ra – Rugosidade Média

S. mutans – *Streptococcus mutans*

S. sanguinis – *Streptococcus sanguinis*

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

Resumo

RESUMO

A formação do biofilme e o acúmulo bacteriano em materiais odontológicos podem causar o desenvolvimento de inflamação gengival e cáries secundárias. Objetivos: A proposição deste estudo foi examinar o efeito de diferentes finalizações superficiais na rugosidade superficial e adesão de *S. sanguinis* na resina acrílica. Materiais e Métodos: 50 espécimes (6mm de diâmetro) foram divididos em 5 grupos (n=10), de acordo com técnica de confecção e acabamento ou polimento, L (Proporção recomendada pelo fabricante (3:1) e polido laboratorialmente), NF (Técnica de Nealon e acabamento), NP (Técnica de Nealon e polimento manual), MF (3:1 e acabamento) e MP (3:1 e polimento manual). Cinco amostras representativas foram submetidas ao teste de adesão bacteriana e contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) em microscopia eletrônica de varredura (MEV), em duas amostras foram observadas a topografia superficial, outras três amostras foram submetidas ao teste de rugosidade superficial em rugosímetro para obtenção da rugosidade média (Ra). Dados foram comparados usando ANOVA one-way e classificadas pelo teste de Tukey. Resultados: As médias obtidas para contagem de UFCs: L (controle) $1,56 \pm 0,62a$; MP $5,36 \pm 2,08ab$; NP $4,96 \pm 1,92ab$; MF $7,36 \pm 2,45b$ e NF $19,6 \pm 3,05c$. As médias para os valores de Ra (μm): L (controle) $0,09 \pm 0,01a$; MP $0,52 \pm 0,05b$; NP $0,61 \pm 0,08b$; MF $2,69 \pm 0,12c$ e NF $3,23 \pm 0,15d$ (letras diferentes significam diferença estatística). Conclusão: Foi possível concluir que o polimento laboratorial da resina diminuiu a adesão bacteriana e a rugosidade superficial, portanto levando a um melhor prognóstico em termos de saúde periodontal e redução de cáries secundárias.

Palavras Chave: *Streptococcus sanguinis*, rugosidade superficial, adesão bacteriana, resina acrílica

Abstract

ABSTRACT

EFFECT OF FINISHING AND MANIPULATION TECHNIQUES TO ACRYLIC RESIN IN BACTERIAL ADHESION AND SURFACE ROUGHNESS

The formation of biofilm and bacterial accumulation on dental materials may lead to the development of gingival inflammation and secondary caries. In dentistry different techniques can be used to make provisional restorations using acrylic polymethyl methacrylates (PMMA). The purpose of this study was to examine the effect of different surface finishing and polishing on surface roughness and the adhesion of *S. sanguinis* bacteria to PMMA. Fifty specimens (6mm diameter) were divided into 5 groups (n=5), following fabrication techniques and surface finishing and polishing: L (laboratorial fabrication and polishing), NF (Nealon technique and surface finishing), NP (Nealon technique and surface polishing), MF (technique recommended by manufacture and surface finishing), MP (technique recommended by manufacture and surface polishing). Five representative specimens were submitted to bacterial adhesion test and measured by counting with SEM images, two were observed the surface topography also by SEM images, other three were submitted to roughness test. Data were compared by ANOVA. The mean results of sample bacterial counts: NF: 19.6c; MP: 5.36ab; NP: 4.96ab; MF: 7.36b and L (control): 1.56a. The mean results of surface roughness: NF: 3.23d; MP: 0.52b; NP: 0.60b; MF: 2.69c and L (control): 0.07a (different letters means statistical significance difference). It was conclude that the laboratory processing of PMMA may decrease *S.sanguinis* adhesion and surface roughness, thus has a better prognosis in terms of periodontal health and less secondary caries.

Key words: Streptococcus sanguinis, surface roughness, bacterial adhesion, acrylic resin

Introdução

INTRODUÇÃO

A adesão de certos microorganismos a superfícies específicas da cavidade oral humana que resultam na formação da placa dental é a principal causa de doenças orais como: inflamação gengival, estomatite e cáries secundárias, que consequentemente contribuem para complicações para a saúde do indivíduo (Okte et al., 1999; Deligeorgi et al., 2001). Superfícies ditas rugosas apresentam falhas em sua estrutura, espaços vazios (decorrentes da inclusão de ar durante a polimerização) e vales superficiais que reduzem a influencia das forças cisalhantes na adesão bacteriana inicial (Nyvad & Fejerskov, 1987; An & Friedman, 1998; Morgan & Wilson, 2001). Na literatura, são encontrados poucos estudos utilizando testes de adesão em materiais protéticos e de implantodontia, menos ainda, relacionados a materiais provisórios (Grivet et al., 2000; Sardin et al., 2004).

Os principais materiais utilizados para confecção de provisórios são resinas acrílicas à base de Polimetil metacrilato (PMMA), grupo de resinas odontológicas com mais tempo de uso (Buergers et al., 2007) e que possui variedade de técnicas de utilização (Nealon, 1952). É sabido que quanto menos rugosa e mais homogênea for a superfície da restauração provisória, principalmente na área do término cervical, melhores serão as condições do tecido periodontal adjacente, visto que essas características contribuem para menor proliferação bacteriana e consequentemente adequado condicionamento gengival e dos demais tecidos periodontais (Fields & Lancaster, 1993; Quirynen et al., 1996; Pegoraro, 1998). Esse material provisório é exposto a uma colonização bacteriana em nível maior se comparado a restaurações definitivas por possuir uma superfície com maior rugosidade e espaço na interface dente/restauração. Isso é especialmente verdade quando são usados por um longo período de tempo (Buergers et al., 2007).

A adesão bacteriana difere entre as várias espécies de bactérias, a maioria dos estudos prévios refere-se à bactéria estreptocócica, já que pertencem a um grupo conhecido com “bactérias de colonização rápida”, e pertencente a um grupo que está diretamente envolvido na patogênese da cárie (Whittaker et al., 1996; An & Friedman, 1997). Estudos prévios descrevem

métodos variáveis de estudos *in vitro* para quantificar a adesão de determinadas espécies bacterianas no substrato dental, como Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e contagem direta (An & Friedman, 1997; Taylor et al., 1998a; Taylor et al., 1998b). Neste estudo, foi utilizado um método de fácil reprodução associando os dois métodos, fazendo a contagem direta de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) a partir de imagens obtidas no MEV.

A rugosidade superficial de materiais odontológicos é obtida através de várias metodologias, sendo todas elas, quase sempre utilizadas para alcançar o valor de rugosidade média (Ra), que significa a média dos picos e vales encontrados na superfície a ser estudada.

Sendo assim, as hipóteses geradas para este estudo são (1) de que diferentes procedimentos de finalização superficial resultará em diferentes rugosidades superficiais (2) quanto maior a rugosidade superficial maior será a adesão bacteriana à superfície.

Revisão de Literatura

REVISÃO DE LITERATURA

Nealon (1952) descreveu a técnica de manipulação de resina acrílica através de pincel, na qual em dois recipientes contendo em um líquido (monômero) e em outro pó (polímero), com a ajuda do pincel as duas partes são aglutinadas e depositadas em pequenas quantidades com maior domínio de escoamento e de regiões a serem copiadas pela resina acrílica.

Doyle *et al.*(1995) e Kodjikian *et al.*(2003) utilizaram metodologia similar a utilizada em teste de adesão bacteriana para materiais odontológicos, confirmando a reprodutibilidade da metodologia para diferentes materiais. Foi feito o teste de adesão bacteriana para lentes intraoculares verificando os tipos de bactérias presentes na flora ocular que se aderiam à superfície da lente.

Quirynen *et al.* (1996) fez algumas observações sobre a rugosidade superficial de pilares protéticos de implantes e à adesão bacteriana causadora de gengivite. Concluiu-se que quanto mais lisa as superfícies melhor o prognóstico dos tratamentos devido a menor formação de placa e gengivite que é um processo crítico no tratamento de próteses implantadas.

Bollen *et al.* (1997) elaboraram uma revisão para avaliar a rugosidade superficial inicial de alguns materiais utilizados em odontologia. Encontrou-se que a rugosidade superficial dos materiais é bastante variável e algumas técnicas clínicas podem tornar a superfície mais ou menos lisa, como um polimento bem realizado. Os achados do estudo indicam que os materiais utilizados em odontologia devem ser mantidos o mais lisos possível.

An & Friedman (1998) fizeram uma revisão sobre os mecanismos de adesão bacteriana e os fatores que afetam a adesão. O processo de adesão depende de vários fatores incluindo características intrínsecas às bactérias, da superfície do material alvo e do meio.

Taylor *et al.* (1998a) investigou o efeito do acabamento em materiais odontológicos e sua subsequente contaminação por microorganismos. O tipo de tratamento superficial e o tamanho dos defeitos provocados por este acabamento influenciaram nos valores de rugosidade superficial e adesão bacteriana sendo estes diretamente ligados, ou seja, quando um valor aumenta o outro também.

Grivet *et al.* (2000) estudou a relação entre a adesão bacteriana em metais nobres e não-nobres e a hidrofobicidade tanto dos metais quanto das bactérias. Os testes feitos mostraram que existe correlação entre a hidrofobicidade do substrato e a adesão bacteriana, portanto metais com a superfície hidrofóbica favorecem a adesão.

Deligeorgi *et al.* (2001) investigou a troca de restaurações e o que pode provocar o seu insucesso. O diagnóstico de cáries continuou na maioria das restaurações intra-orais.

Martínez-Gomis *et al.* (2003) procurou encontrar um método de acabamento e polimento eficaz para cerâmicas, as quais em muitos casos necessitam de ajustes após instaladas, este ajuste deixa uma superfície rugosa aumentando a possibilidade de acúmulo de placa. Todos os métodos utilizados reduziram a rugosidade superficial da cerâmica.

Sardin *et al.* (2004) avaliou a adesão de bactérias em materiais protéticos, de implantes e amostras de esmalte. Foi observada baixa adesão em esmalte.

Eick *et al.* (2004) avaliou a adesão de *S. mutans* em materiais restauradores, as bactérias foram adicionadas à saliva artificial e esta sobre os corpos de prova, 48 horas depois foi medido o peso da placa formada, o número de bactérias e a viabilidade destas. Encontrou-se que a adesão

depende da viabilidade da bactéria e que o flúor contido em alguns materiais como o ionômero não são eficazes contra o desenvolvimento bacteriano.

Montanaro *et al.* (2004) fez uma avaliação da adesão bacteriana sobre diferentes materiais restauradores verificando apenas se houve adesão ou não através da turbidez de um caldo após a incubação dos corpos de prova. O resultado foi positivo para todos os materiais inclusive os que possuíam flúor em sua composição.

Buergers *et al.* (2007) verificou a susceptibilidade de materiais utilizados para confecção de provisórias de próteses fixas à adesão de *Streptococcus mutans*, foi examinada também a relação da rugosidade superficial e hidrofobicidade. A adesão bacteriana variou entre os tipos de material e a relação entre rugosidade e hidrofobicidade não foi confirmada. Resinas a base de Bis-GMA e de PMMA apresentaram menor potencial à adesão bacteriana.

Faltermeier *et al.* (2008) investigou a aderência bacteriana a braquetes ortodônticos plásticos. Essa adesão pode desencadear a doença cárie nas áreas periféricas do braquete estético, o que não ocorria com os braquetes metálicos. Dentro de vários tipos de dispositivo estéticos estudados houve adesão bacteriana em todos, mas sem diferença estatística entre eles.

Bal *et al.* (2008) comparou a adesão de microorganismos orais em superfícies de diferentes tipos de material macio de reembasamento e resinas acrílicas. Maior número de microorganismos foi encontrado nas superfícies de material macio que nas resinas acrílicas.

Hahnel *et al.* (2008) avaliou a susceptibilidade de dentes artificiais à adesão de *S. mutans*. Foi encontrado que dentes confeccionados com resina acrílica à base de PMMA tiveram menor adesão bacteriana devido a sua estrutura de cadeia polimérica.

Rosentritt *et al.* (2008) testou a adesão bacteriana à superfícies de materiais restauradores em meio de saliva artificial simulando a formação do biofilme. A viabilidade das UFCs aderidas foi verificada através da

fluorescência. Os menores valores para adesão foram encontrados para as ligas metálicas, mas foram encontradas UFCs em todos os tipos de material.

Kantorski *et al.* (2009) procurou relação entre a rugosidade superficial e a adesão bacteriana em materiais restauradores estéticos indiretos. Foi encontrado que quanto mais rugoso o material maior a adesão bacteriana, sendo a cerâmica reforçada por leucita a mais rugosa e com maior aderência de bactérias e todas as resinas compostas estudadas foram similares quanto esses aspectos.

Buergers *et al.*(2009) verificou a susceptibilidade de resinas compostas à adesão de *Streptococcus mutans*, foi examinada também a relação da rugosidade superficial, hidrofobicidade e tipo de matriz. A resina a base de silorano apresentou menor adesão bacteriana que as resinas convencionais possivelmente pelo aumento da hidrofobicidade.

Hahnel *et al.* (2009) investigou as propriedades superficiais das cerâmicas odontológicas e correlacionou com a adesão inicial de cepas de *Streptococcus*. Encontrou diferença entre a rugosidade média das cerâmicas, entretanto a correlação com a adesão bacteriana foi pobre.

Kantorski *et al.* (2009) estudou tanto a rugosidade superficial quanto a adesão bacteriana em materiais restauradores estéticos e encontrou que os materiais que apresentavam maior rugosidade superficial também apresentavam maior aderência bacteriana.

Ota-Tsuzuki *et al.* (2009) avaliou a rugosidade superficial de raízes dentais após tratamentos periodontais e aderência de *S. sanguinis* sobre estas superfícies tratadas. Todos os tratamentos utilizados aumentaram a Ra e a superfície que apresentou maior rugosidade teve também maior valor para contagem celular.

Charman *et al.*(2009) estudou o efeito da rugosidade superficial em resinas para próteses totais na adesão de *Streptococcus oralis*. Indicando que o uso de produtos químicos para limpeza pode reduzir o desgaste superficial e, assim, diminuir a adesão bacteriana.

Aykent *et al.* (2010) estudando o efeito do acabamento e polimento na rugosidade superficial e adesão bacteriana em dois tipos de resina composta indireta, um tipo de resina composta direta e um tipo de cerâmica, encontrou que o acabamento com ponta diamantada sobre resina indireta provoca maior rugosidade, e encontrou também correlação entre a rugosidade superficial e a adesão bacteriana de *Streptococcus mutans*.

Okahashi *et al.* (2010) descreveu um achado responsável pela adesão de *S. sanguinis*, justificando sua capacidade de ser o primeiro organismo a aderir a uma superfície na formação do biofilme.

Objetivos

OBJETIVOS

Geral

Gerar conhecimento a respeito dos diversos tipos de técnicas de confecção de restaurações provisórias em reabilitações orais, visando mais qualidade da saúde dos tecidos dentais e periodontais, na busca por maior longevidade e previsibilidade dos tratamentos reabilitadores.

Específicos

1. Avaliar a relação em topografia e rugosidade superficial de resina acrílica à base de polimetil metacrilato e a proliferação de microorganismos, por meio de cultura celular;
2. Analisar a interferência de diferentes tipos de processamento laboratorial, na qualidade final da topografia e rugosidade superficial de resina acrílica à base de polimetil metacrilato.

Materiais e Métodos

MATERIAIS E MÉTODOS

Confecção dos corpos de prova

Discos em RAAQ foram confeccionados por meio de três técnicas distintas (Técnica prensada, Técnica de Nealon e Técnica seguindo as orientações de proporcionamento do fabricante – 3:1) seguidos de polimento ou apenas de acabamento com a ponta diamantada PM82.

Foi utilizada a resina Dencrilay (Dencril, Pirassununga-SP-Brasil) cor 62, simulando a confecção de provisórios. A resina é disposta em dois frascos, um contendo um pó (partículas pré-polimerizadas de resina) e outro contendo líquido (monômero de PMMA) ao se misturarem o monômero reage com o polímero desencadeando uma reação de formação de mais polímeros que resultará na resina acrílica que pode ser moldada e adaptada à região de interesse. Deste modo, para confecção dos discos foram encerados discos em cera de 6mm X 2mm, a partir destes discos foi confeccionada uma matriz, moldando os discos com silicone de condensação SPEEDEX (Vigodent, Rio de Janeiro – RJ –Brasil) a partir da qual seriam confeccionados os discos em resina.

Foram confeccionados 50 (quarenta) discos, sendo 10 (dez) discos por vez, a resina foi manipulada seguindo as recomendações do fabricante (3 partes de pó para 1 parte de líquido em peso) com auxílio de uma colher proporcionadora da própria resina (Figura 1). Para a técnica prensada estes discos em cera foram incluídos em mufla, onde após a moldagem destes com o

gesso a resina foi manipulada da mesma forma e incluída em mufla e prensada com 1,5ton por meio de prensa manual, a resina foi mantida na mufla durante 30 minutos até o final da polimerização da mesma.



Figura 1 – Dispositivos dosadores para resina acrílica

Foram confeccionados, então, 10 espécimes através da técnica prensada e 40 através da técnica de proporcionamento do fabricante. Destes, 20 foram levados para a lixadeira para desgastar aproximadamente 1mm em altura, em seguida os espécimes foram devolvidos a matriz e acrescentada resina através de pincel (00, Tigre S/A, São Paulo – SP – Brasil) da técnica de Nealon (Nealon, 1952), representado na Figura 2.

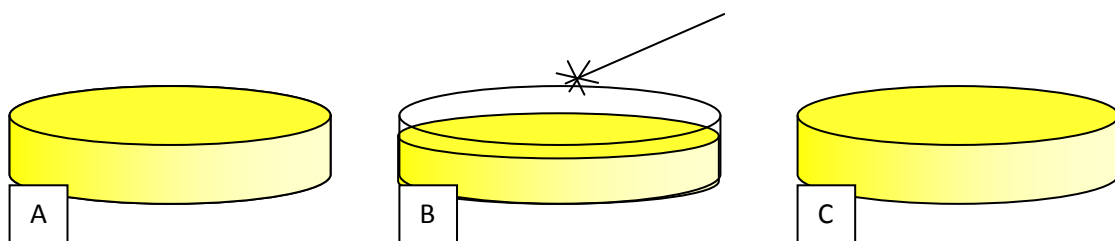


Figura 2 – representando a confecção dos corpos de prova pela Técnica de Nealon. A, Corpo de prova confeccionado na proporção 3:1; B, Corpo de prova desgastado e pincel para acréscimo; C, corpo de prova finalizado com superfície confeccionada com a técnica de Nealon.

Os discos foram finalizados seguindo a combinação de procedimentos estabelecida para cada grupo:

Grupos	Técnica de Confeção	Acabamento	Polimento
L (Controle)	3:1 prensada	Ponta PM82	Em torno
MP	3:1	Ponta PM82	Manual
NP	Nealon	Ponta PM82	Manual
MF	3:1	Ponta PM82	-
NF	Nealon	Ponta PM82	-

Quadro 1 - Descrevendo os procedimentos realizados na finalização dos corpos de prova, o acabamento foi realizado com a ponta PM82 (KG Sorensen – São Paulo – SP – Brasil) para remover irregularidades grosseiras, o polimento em torno foi feito inicialmente com escova e uma pasta de pedrapomes e em seguida com feltro e uma pasta com branco de espanha, o polimento manual foi feito com a pedra montada de carborundum, borracha shofu cinza e taça de borracha para profilaxia, respectivamente com vaselina. Cada passo do polimento foi realizado durante 30 segundos.

- Grupo L: técnica prensada (n=10);
- Grupo MF: Proporcionamento do fabricante + acabamento (n=10);
- Grupo NF: Técnica de Nealon + acabamento (n=10);
- Grupo MP: Proporcionamento do fabricante + polimento manual (n=10);
- Grupo NP: técnica de Nealon + polimento manual (n=10).

Teste de Adesão bacteriana

Colônias bacterianas da espécie *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) foram induzidas ao crescimento para posterior adesão nas

superfícies dos discos de RAAQ (figura 3). Nessa etapa, o processo de crescimento bacteriano foi realizado em substância de *Brain Heart Infusion* (BHI) por 24 horas e mantidas em estufa a 37°C. Em seguida, realizou-se a diluição da suspensão em uma alíquota de 3×10^8 UFC/mL (Unidade Formadora de Colônia por mililitro) de *S.sanguinis* com pipeta automática (HT Soft) em solução salina de PBS (20%) estéril e densidade padrão de 1 McFarland (Figura 4). Então foi feita incubação em Shaker (Incubadora Shaker-Adamo-Piracicaba-SP/Brasil) a 120rpm por 1 hora para posterior fixação. Antes da fixação, as amostras foram lavadas em PBS estéril, sendo essa solução diluída em água destilada na proporção 1/10, para remoção das bactérias não aderidas à superfície. O processo de fixação foi realizado com álcool em concentração progressiva de 30%, 50%, 70%, 80% e 95% por 7 minutos cada e álcool absoluto por 5, 10 e 15 minutos e finalizado com imersão das amostras em solução Karnovisk por 2 horas, e posterior imersão em tetróxido de ósmio diluído em solução de PBS na proporção de 1/1. Então colocação das amostras em recipiente com sílica para secagem (Doyle et al., 1995; Kodjikian et al., 2003).



Figura 3 – Colônias de *S. sanguinis* cultivadas e prontas para diluição.



Figura 4 – A, Brain Heart Infusion (BHI) solução de crescimento bacteriano; B, estufa utilizada para o crescimento bacteriano a 37° C; C, Caldo bacteriano em BHI com densidade 1 na escala McFarland.

Avaliação da adesão bacteriana

Após adequada fixação e desidratação, as amostras foram aderidas em um *stub* de alumínio com o auxílio de fita dupla face de carbono (Electron Microscopy Sciences, Washington, DC, USA). Em seguida, todos os espécimes receberam cobertura com uma camada de 20 nm de espessura de ouro/paládio mediante o uso de um metalizador (Denton Vacuum Desk II Sputtering, Denton Vacuum, Cherry Hill, NJ). O *stub* contendo as amostras metalizadas foi então levado ao interior do microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 VP; LEO Electron Microscopy Ltd., Cambridge, UK) para análise da adesão bacteriana sob aceleração de voltagem de 20KV, WD=15mm, *spotsize* variando de 25pA a 100pA e magnificação de 4000X, foram realizadas 10 imagens para cada corpo de prova em regiões aleatórias.

As análises foram realizadas no laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ / USP).

A avaliação da quantificação populacional bacteriana foi realizada por três avaliadores após calibração, na qual definiu o que seria classificado como UFC. Foi utilizada média dos valores encontrados pelos avaliadores. Por fim estas médias foram tabuladas e submetidas à análise estatística dos dados utilizando o software SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago EUA). Constatada a normalidade dos dados foi realizado o teste ANOVA Análise de Variância em fator único One-Way ($\alpha=0,05$), sendo posteriormente aplicado o teste Tukey para comparação múltipla de médias ($p=0,05$).

Foram também realizadas imagens com magnificação de 180X para ilustrar a estrutura de cada grupo e ilustrar a superfície de forma mais detalhada.

Teste de Rugosidade Superficial

O teste de rugosidade foi realizado com auxílio do perfilômetro SurfTest SJ- 301 Mitutoyo (Figura 5), seguindo os parâmetros descritos por Gadelmawla, 2002. Estudo no qual define padrão da ISO 97, que apresenta cut-off de 0,25 μm , e o perfil verificado é o R, foi selecionado o valor de R_a (Rugosidade Média) para avaliação do perfil das amostras. Estes valores foram obtidos em três regiões do corpo de prova uma central e duas periféricas (Figura 6), totalizando nove leituras por grupo. Foi utilizada média dos valores encontrados. Por fim estas médias foram tabuladas e submetidas à análise estatística dos dados utilizando o software SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago EUA). Constatada a normalidade dos dados foi realizado o teste ANOVA Análise de Variância em fator único One-Way ($\alpha=0,05$) sendo posteriormente aplicado o teste Tukey para comparação múltipla de médias ($p=0,05$).



Figura 5 – Rugosímetro durante a calibração

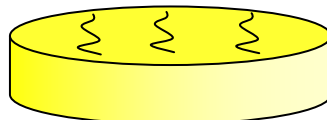


Figura 6 - Exemplificando as três leituras feitas por corpo de prova.

Resultados

RESULTADOS

Contagem de UFCs

Bactérias foram encontradas em todas as superfícies investigadas indicando a eficácia da metodologia. As bactérias estavam, em sua maioria, isoladas o que significa que houve mais adesão à superfície que coagregação entre elas. Os valores para UFC variaram nos diferentes grupos, como apresentado no Quadro 2, no qual se encontram as médias obtidas a partir das leituras feitas pelos três avaliadores. Como descrito anteriormente, foram realizadas dez imagens para cada corpo de prova, sendo cinco corpos de prova por grupo estudado. A Tabela 1 apresenta as médias e os grupos estatísticos. O grupo NF apresentou adesão bacteriana significativamente maior que os outros grupos e o grupo controle apresentou diferença estatística em relação aos grupos não polidos – NF e MF. Os grupos polidos – NP e MP – e o grupo MF apresentaram diferença significativa em relação a NF, como pode ser facilmente observado no Gráfico 1. É possível observar as bactérias aderidas às superfícies das amostras na Figura 7.

	L	MP	NP	MF	NF
Imagem 1.1	5	7	2	6	19
Imagem 1.2	2	12	11	4	16
Imagem 1.3	1	2	18	8	17
Imagem 1.4	4	5	6	12	36
Imagem 1.5	0	6	1	2	15
Imagem 1.6	3	8	8	9	14
Imagem 1.7	2	6	7	7	21
Imagem 1.8	3	5	6	8	34
Imagem 1.9	4	5	7	7	25
Imagem 1.10	2	4	8	5	23

Imagem 2.1	1	4	2	7	20
Imagem 2.2	3	2	1	2	22
Imagem 2.3	2	2	6	2	21
Imagem 2.4	1	4	12	11	9
Imagem 2.5	1	1	11	6	18
Imagem 2.6	0	1	5	7	20
Imagem 2.7	0	2	4	3	22
Imagem 2.8	2	3	9	5	17
Imagem 2.9	3	1	7	9	14
Imagem 2.10	1	5	5	8	21
Imagem 3.1	1	5	5	6	6
Imagem 3.2	0	6	1	5	32
Imagem 3.3	4	5	4	12	9
Imagem 3.4	0	2	2	8	17
Imagem 3.5	2	1	1	20	11
Imagem 3.6	3	4	5	10	28
Imagem 3.7	0	2	3	5	55
Imagem 3.8	5	3	1	7	13
Imagem 3.9	2	1	4	3	22
Imagem 3.10	1	0	3	14	19
Imagem 4.1	0	6	4	11	14
Imagem 4.2	0	5	5	11	12
Imagem 4.3	5	7	6	18	19

Imagem 4.4	0	8	4	5	17
Imagem 4.5	1	11	3	3	13
Imagem 4.6	1	1	5	3	24
Imagem 4.7	1	1	7	1	38
Imagem 4.8	2	1	6	9	22
Imagem 4.9	2	7	4	4	40
Imagem 4.10	2	0	3	7	20
Imagem 5.1	2	11	6	8	25
Imagem 5.2	0	2	3	6	20
Imagem 5.3	0	6	2	4	19
Imagem 5.4	1	5	6	3	14
Imagem 5.5	2	11	3	2	9
Imagem 5.6	2	0	2	1	8
Imagem 5.7	5	2	0	2	33
Imagem 5.8	11	1	2	8	21
Imagem 5.9	3	2	1	6	29
Imagem 5.10	5	1	0	2	13

Quadro 2 – representando a média dos avaliadores para cada imagem obtida para contagem de UFC.

Grupos	Unidades Formadoras de Colônia (DP)
L (control)	1,56 (0,62) ^a
MP	5,36 (2,08) ^{ab}
NP	4,96 (1,92) ^{ab}
MF	7,36 (2,45) ^b
NF	19,60 (3,05) ^c

Tabela 1 – Valores Médios de UFC para cada grupo com a classificação estatística, onde letra diferente significa grupo estatístico diferente.

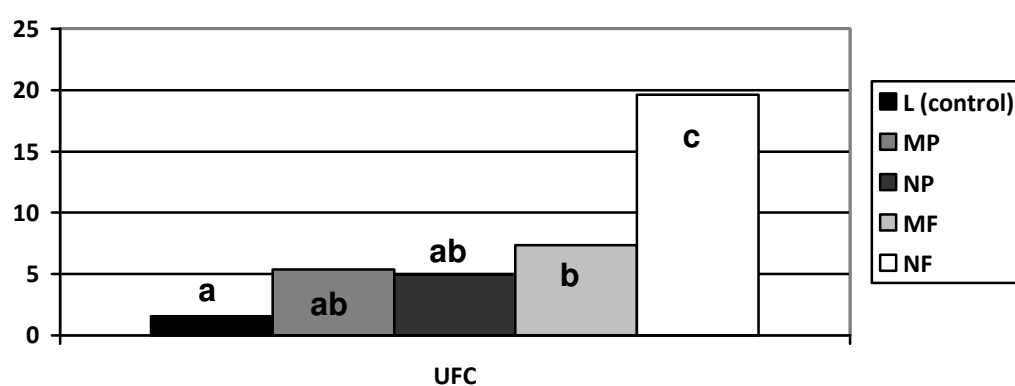


Gráfico 1 – Análise da contagem de UFC com identificação dos grupos estatísticos

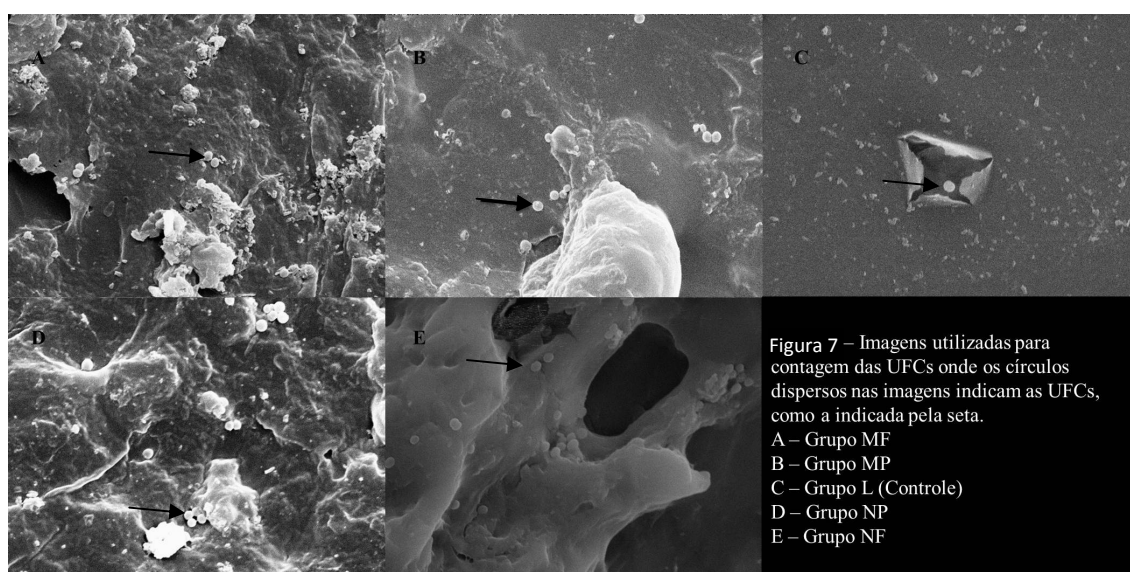


Figura 7 – Representação das imagens de MEV com magnificação de 4000X para contagem de UFC. Setas indicam Unidades Formadoras de Colônia.

Rugosidade Superficial

Assim como esperado, os grupos polidos apresentaram valores mais baixos de Ra. Foram registrados, assim como mencionado anteriormente, três valores de Ra para cada corpo de prova, um central e dois periféricos a fim de caracterizar a superfície estudada, os valores obtidos estão dispostos no Quadro 3. Após submeter os valores obtidos à análise estatística descrita na metodologia as médias e os grupos estatísticos foram definidos, e dispostos na Tabela 2. O Grupo Controle se mostrou mais liso que todos os outros grupos, o NF apresentou-se o mais rugoso e os grupos polidos – MP e NP – apresentaram semelhança estatística. Isto pode ser observado no Gráfico 2 que representa as médias de Ra obtidas para cada grupo experimental.

	L	MP	NP	MF	NF
Leitura 1.1	0,04	0,36	0,46	2,62	2,85
Leitura 1.2	0,05	0,68	0,57	3,01	3,22
Leitura 1.3	0,05	0,43	0,52	2,05	3,49
Leitura 2.1	0,06	0,92	0,78	3,06	3,22
Leitura 2.2	0,06	0,41	0,6	3,26	4,13
Leitura 2.3	0,11	0,41	0,65	1,98	2,83
Leitura 3.1	0,12	0,46	0,67	3,1	3,29
Leitura 3.2	0,06	0,75	0,57	3,13	3,08
Leitura 3.3	0,07	0,28	0,66	2,04	2,96

Quadro 3 – Representando os valores em μm para a Rugosidade média (Ra)

Grupos	Rugosidade Superficial (DP)
L (control)	0,09 (0,01) ^a
MP	0,52 (0,05) ^b
NP	0,61 (0,08) ^b
MF	2,69 (0,12) ^c
NF	3,23 (0,15) ^d

Tabela 2 – Valores Médios de Ra (μm) para cada grupo com a classificação estatística, onde letra diferente significa grupo estatístico diferente.

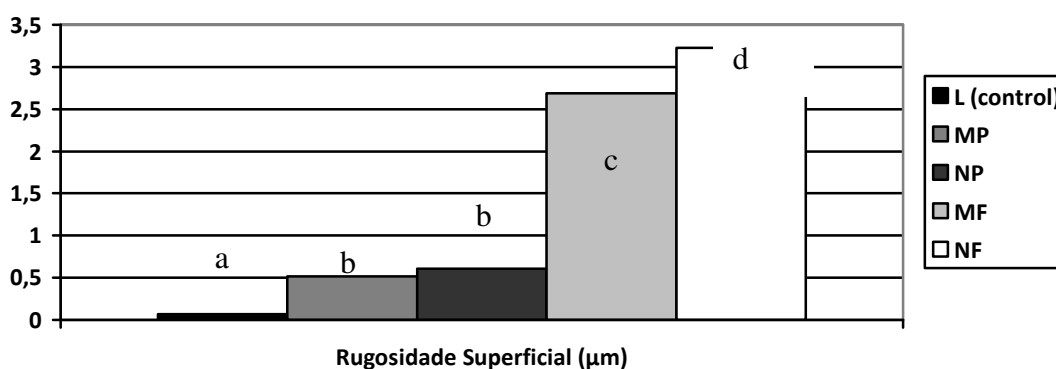


Gráfico 2 – Análise da rugosidade superficial com identificação dos grupos estatísticos

Análise da Adesão de UFC em relação à rugosidade superficial

Analisando os resultados para adesão bacteriana e rugosidade superficial é possível notar que as duas características do material são dependentes, ou seja, quanto mais altos valores de rugosidade superficial maiores valores para adesão bacteriana. Para o grupo L (controle), que se apresentou o mais liso, houve adesão bacteriana bem reduzida em relação aos outros grupos. Ao aumentar os valores da rugosidade média (Ra) foi notado aumento da adesão, isso fica muito claro e bastante significativo ao analisar os

dois extremos em termo de valores, os grupos L e NF, o primeiro bastante liso e com pouca adesão bacteriana, o segundo apresentou a superfície mais rugosa testada e adesão bacteriana com valores superiores a todos os outros grupos estudados. O que revela a ligação direta entre os dois fatores estudados.

As imagens ilustrativas (Figura 3) feitas de cada grupo com menor aumento ajudam a entender como a manipulação do material afeta a estrutura da resina.

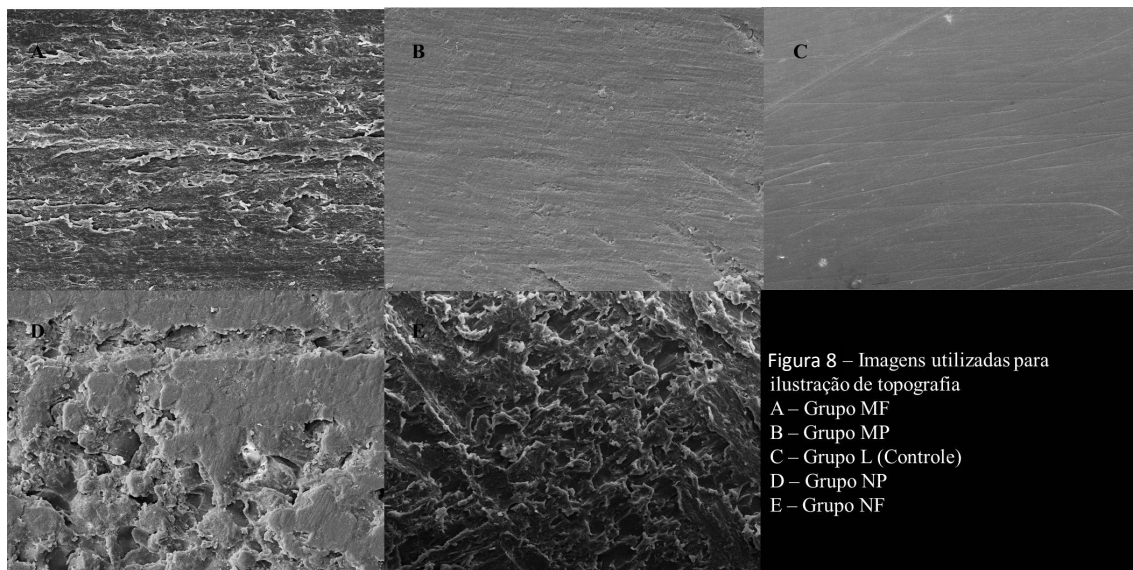


Figura 8 - Representação das imagens de MEV com magnificação de 150X para ilustração da topografia superficial

Discussão

DISCUSSÃO

A hipótese gerada por este estudo foi aceita, já que a ligação entre a rugosidade superficial e a adesão bacteriana existiu.

Uma série de estudos têm investigado a formação de placa em diferentes materiais restauradores (Satou et al., 1988; Svanberg et al., 1990; Bollen et al., 1997; Okte et al., 1999; Grivet et al., 2000; Eick et al., 2004; Montanaro et al., 2004; Sardin et al., 2004; Buergers et al., 2007; Bal et al., 2008; Faltermeier et al., 2008; Hahnel et al., 2008; Rosentritt et al., 2008; Buergers et al., 2009), provisórios ou não, a influência de diferentes acabamentos (Martinez-Gomis et al., 2003; Aykent et al., 2010), e rugosidade superficial de diferentes materiais. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi verificar a influência da rugosidade do material e da técnica de confecção, assim como, acabamento e polimento, na adesão bacteriana em resina acrílica utilizada para próteses fixas provisórias.

Existe uma relação direta entre a adesão microbiana e formação de placa (Morgan & Wilson, 2001), o que justifica a utilização, por alguns estudos, do teste de adesão, que tem menos variáveis do que um teste de formação de placa. Os dados gerados indicam que a rugosidade superficial é um fator dominante na determinação da aderência bacteriana, o que entra em concordância com outros estudos (Quirynen et al., 1996; Charman et al., 2009; Aykent et al., 2010).

Ambas as metodologias utilizadas neste estudo são bem difundidas na literatura, dando uma maior confiabilidade aos resultados. A metodologia de adesão bacteriana, inclusive já foi utilizada de forma bastante semelhante para outras áreas, como a oftalmologia (Doyle et al., 1995; Kodjikian et al., 2003).

O teste de adesão bacteriana é semelhante em muitos estudos em odontologia, diferenciando a análise das imagens e na contagem das UFCs. Alguns se utilizam de fluorescência para qualificar bactérias viáveis (Buergers et al., 2007; Hahnel et al., 2008; Rosentritt et al., 2008; Buergers et al., 2009; Hahnel et al., 2009), outros com uma simples contagem através de imagem de

MEV (Eick et al., 2004; Ota-Tsuzuki et al., 2009). O último método foi utilizado neste trabalho devido à facilidade de reprodução.

A cepa de *S. sanguinis* utilizada foi escolhida devido a sua facilidade de adesão inicial, por ser um microorganismo presente na cavidade oral em abundância e por iniciar a formação do biofilme (Ota-Tsuzuki et al., 2009; Okahashi et al., 2010).

A rugosidade superficial pode ser obtida através de vários equipamentos, sendo uma delas através de um perfilômetro, como o utilizado neste estudo, que possui como limitação ser um teste destrutivo por riscar a superfície estudada com a ponta leitora. Através dele obtêm-se dados relativos à característica superficial do material estudado, no caso foram utilizados os valores de Rugosidade média (Ra) da superfície estudada, seguindo o que outros estudos analisaram (Bollen et al., 1997; Hahnel et al., 2009; Kantorski et al., 2009), outros perfis para rugosidade também podem ser obtidos, entretanto a Ra foi suficiente para caracterizar os grupos.

Muitos estudos fizeram uma correlação entre a rugosidade superficial e a adesão bacteriana, segundo estes estudos a característica superficial dos materiais podem prever o acúmulo de placa que será formado sobre estes. Em todos os estudos que fizeram esta correlação sempre foi encontrando que quanto maior a rugosidade maior será a adesão bacteriana (Buergers et al., 2007; Hahnel et al., 2008; Rosentritt et al., 2008; Buergers et al., 2009; Hahnel et al., 2009), entrando em concordância com este estudo.

Assim como mencionado pro outros artigos, houve aumento na aderência bacteriana com aumento da rugosidade da superfície para todos os grupos deste estudo, em um estudo prévio foi feita a mesma correlação estudando cerâmica, mas os resultados foram pobres (Hahnel et al., 2009). A análise dos resultados indica uma variabilidade dos dados em relação aos valores da Ra e, portanto a área coberta em superfícies mais rugosas é mais elevada em comparação com as mais lisas, sendo este um dos motivos para o maior achado de UFCs em superfícies mais rugosas (Faltermeier et al., 2008).

Pelos resultados obtidos neste estudo é possível observar que a superfície mais rugosa apresentou a maior adesão de UFC. Portanto, de acordo com os resultados, a resina prensada com seus procedimentos laboratoriais de acabamento e polimento (grupo controle) foi menos rugosa do que outros grupos estudados e, provavelmente, neste sentido apresentou uma adesão menor de estreptococos. As amostras com superfícies acabadas e feitas pela técnica de Nealon apresentaram os maiores valores de rugosidade e aderência de UFCs, o que indica um uso crítico em longo prazo.

Presença de sulcos e depressões foi encontrada mais em espécimes feitos pela técnica de Nealon. No entanto, os grupos que receberam polimento manual – MP e NP – apresentaram características superficiais semelhantes e valores semelhantes para rugosidade. O que reforça a ideia de que o polimento deve ser realizado em todos os casos possíveis, em que se utilizar material restaurador.

As imagens ilustrativas da topografia dos espécimes vão em concordância com os valores encontrados tanto para rugosidade superficial, em que se espera valores altos para superfícies com defeitos estruturais, quanto para adesão bacteriana, na qual quanto mais defeitos na superfície maior será o número de UFC aderidas a superfície, de acordo com a hipótese estipulada pelo trabalho e resultados encontrados nos outros estudos revisados (Kodjikian et al., 2003; Sasahara et al., 2006; Buergers et al., 2007; Hahnel et al., 2008; Rosentritt et al., 2008; Buergers et al., 2009; Hahnel et al., 2009; Kantorski et al., 2009; Aykent et al., 2010).

Tendo o domínio da metodologia, novos estudos devem ser realizados para avaliar a aderência bacteriana em diferentes materiais restauradores e desenvolver um protocolo de polimento simples e que resulte em uma superfície que não leve danos aos tecidos adjacentes.

Conclusões

CONCLUSÕES

Dentro das limitações deste estudo, é possível concluir que (1) próteses provisórias confeccionadas pelo método laboratorial apresentaram enor rugosidade superficial e menor aderência bacteriana, (2) as técnicas clínicas (Nealon e proporcionamento do fabricante) devem receber polimento sempre que usadas. Sendo assim, em todos os casos, os materiais devem ser polidos para que uma superfície lisa esteja exposta ao meio, reduzindo os riscos de doenças causadas pela formação de biofilme, como a cárie e a periodontite ou periimplantite.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. **J Biomed Mater Res.** 1998;43(3):338-48.
2. An YH, Friedman RJ. Laboratory methods for studies of bacterial adhesion. **J Microbiol Methods.** 1997;30(141-52).
3. Aykent F, Yondem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S. Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. **J Prosthet Dent.** 2010;103(4):221-7.
4. Bal BT, Yavuzylmaz H, Yucel M. A pilot study to evaluate the adhesion of oral microorganisms to temporary soft lining materials. **J Oral Sci.** 2008;50(1):1-8.
5. Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. **Dent Mater.** 1997;13(4):258-69.
6. Buergers R, Rosentritt M, Handel G. Bacterial adhesion of Streptococcus mutans to provisional fixed prosthodontic material. **J Prosthet Dent.** 2007;98(6):461-9.
7. Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. **Dent Mater.** 2009;25(2):269-75.
8. Charman KM, Fernandez P, Loewy Z, Middleton AM. Attachment of Streptococcus oralis on acrylic substrates of varying roughness. **Lett Appl Microbiol.** 2009;48(4):472-7.
9. Deligeorgi V, Mjor IA, Wilson NH. An overview of reasons for the placement and replacement of restorations. **Prim Dent Care.** 2001;8(1):5-11.
10. Doyle A, Beigi B, Early A, Blake A, Eustace P, Hone R. Adherence of bacteria to intraocular lenses: a prospective study. **Br J Ophthalmol.** 1995;79(4):347-9.
11. 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(3):278-85.
12. Faltermeier A, Burgers R, Rosentritt M. Bacterial adhesion of Streptococcus mutans to esthetic bracket materials. **Am J Orthod Dentofacial Orthop.** 2008;133(4 Suppl):S99-103.

13. Fields RD, Lancaster MV. Dual-attribute continuous monitoring of cell proliferation/cytotoxicity. **Am Biotechnol Lab.** 1993;11(4):48-50.
14. Grivet M, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O. Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. **J Mater Sci Mater Med.** 2000;11(10):637-42.
15. Hahnel S, Rosentritt M, Burgers R, Handel G. Adhesion of Streptococcus mutans NCTC 10449 to artificial teeth: an in vitro study. **J Prosthet Dent.** 2008;100(4):309-15.
16. Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Burgers R. Surface characterization of dental ceramics and initial streptococcal adhesion in vitro. **Dent Mater.** 2009;25(8):969-75.
17. Kantorski KZ, Scotti R, Valandro LF, Bottino MA, Koga-Ito CY, Jorge AO. Surface roughness and bacterial adherence to resin composites and ceramics. **Oral Health Prev Dent.** 2009;7(1):29-32.
18. Kodjikian L, Burillon C, Roques C, Pellon G, Freney J, Renaud FN. Bacterial adherence of Staphylococcus epidermidis to intraocular lenses: a bioluminescence and scanning electron microscopy study. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 2003;44(10):4388-94.
19. Martinez-Gomis J, Bizar J, Anglada JM, Samso J, Peraire M. Comparative evaluation of four finishing systems on one ceramic surface. **Int J Prosthodont.** 2003;16(1):74-7.
20. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, et al. Evaluation of bacterial adhesion of Streptococcus mutans on dental restorative materials. **Biomaterials.** 2004;25(18):4457-63.
21. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by Streptococcus oralis in a constant depth film fermentor. **J Appl Microbiol.** 2001;91(1):47-53.
22. Nealon F. Acrylic restorations by the operative nonpressure procedure. **Journal of Prosthetic Dentistry.** 1952;2(4):513-27.
23. Nyvad B, Fejerskov O. Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo. **Scand J Dent Res.** 1987;95(4):287-96.

24. Okahashi N, Nakata M, Sakurai A, Terao Y, Hoshino T, Yamaguchi M, et al. Pili of oral *Streptococcus sanguinis* bind to fibronectin and contribute to cell adhesion. **Biochem Biophys Res Commun.** 2010;391(2):1192-6.
25. Okte E, Sultan N, Dogan B, Asikainen S. Bacterial adhesion of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes to titanium implants: SEM evaluation. A preliminary report. **J Periodontol.** 1999;70(11):1376-82.
26. Ota-Tsuzuki C, Martins FL, Giorgetti AP, de Freitas PM, Duarte PM. In vitro adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dentine root surface after treatment with Er:YAG laser, ultrasonic system, or manual curette. **Photomed Laser Surg.** 2009;27(5):735-41.
27. Pegoraro L. Prótese Fixa. 1st ed: Artes Médicas; 1998.
28. Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, Van Eldere J, van Steenberghe D. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1996;11(2):169-78.
29. Rosentritt M, Hahnel S, Groger G, Muhlfridel B, Burgers R, Handel G. Adhesion of *Streptococcus mutans* to various dental materials in a laminar flow chamber system. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.** 2008;86(1):36-44.
30. Sardin S, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O. In vitro streptococcal adherence on prosthetic and implant materials. Interactions with physicochemical surface properties. **J Oral Rehabil.** 2004;31(2):140-8.
31. Sasahara RM, Ribeiro Fda C, Cesar PF, Yoshimura HN. Influence of the finishing technique on surface roughness of dental porcelains with different microstructures. **Oper Dent.** 2006;31(5):577-83.
32. Satou J, Fukunaga A, Satou N, Shintani H, Okuda K. Streptococcal adherence on various restorative materials. **J Dent Res.** 1988;67(3):588-91.
33. Svanberg M, Mjor IA, Orstavik D. *Mutans streptococci* in plaque from margins of amalgam, composite, and glass-ionomer restorations. **J Dent Res.** 1990;69(3):861-4.
34. Taylor R, Maryan C, Verran J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. **J Prosthet Dent.** 1998a;80(5):592-7.

35. Taylor RL, Verran J, Lees GC, Ward AJ. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. **J Mater Sci Mater Med.** 1998b;9(1):17-22.
36. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. **Annu Rev Microbiol.** 1996;50(513-52.