



UNICAMP

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



Wander José da Silva
Cirurgião – Dentista

**Efeito da Nistatina, Fluconazol e do Extrato Etanólico de Própolis de
Apis mellifera sobre propriedades de superfície de resina acrílica**

Dissertação apresentada a Faculdade
de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Mestre em
Clínica Odontológica, Área de Prótese
Dental.

Piracicaba
2005

Wander José da Silva

Cirurgião – Dentista

**Efeito da Nistatina, Fluconazol e do Extrato Etanólico de Própolis de
Apis mellifera sobre propriedades de superfície de resina acrílica**

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Prótese Dental.

Orientador: Profa. Dra. Altair Del Bel Cury

Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen

Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia

Prof. Dr. Rodrigo Nunes Rached

Piracicaba
2005

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8^a. / 6159

Si38e	Silva, Wander José da. Efeito da Nistatina, Fluconazol e do Extrato Etanólico de Própolis de <i>Apis Mellifera</i> sobre propriedades de superfície de resina acrílica. / Wander José da Silva.-- Piracicaba, SP : [s.n.], 2005. Orientadores: Altair Antoninha Del Bel Cury, Pedro Luiz Rosalen Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Prótese dental. 2. Antimicóticos. I. Del Bel Cury, Altair Antoninha. II. Rosalen, Pedro Luiz. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título. (mg/fop)
-------	---

Título em inglês: Effects of Nystatin, Fluconazole and Ethanolic Extract of *Apis Mellifera* Propolis on acrylic resin surface

Palavras-chave em inglês (*Keywords*): 1. Dental prosthesis. 2. Antifungal agents

Área de concentração: Prótese Dental

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca examinadora: Pedro Luiz Rosalen, Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia, Rodrigo Nunes Rached

Data da defesa: 30/09/2005



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 30 de Setembro de 2005, considerou o candidato WANDER JOSÉ DA SILVA aprovado.

PROF. DR. PEDRO LUIZ ROSALEN

PROF. DR. RODRIGO NUNES RACHED

PROF.ª DR.ª RENATA CUNHA MATHÊUS RODRIGUES GARCIA

Dedicatória

*A **DEUS**, por permitir a minha existência e por poder confiar cegamente a ele a minha vida.*

Aos meus amigos e protetores por me conduzirem de forma tão maravilhosa durante este curto, porém intenso, período de existência neste plano.

*A toda a minha família, **Valderez, José, Thays e Dalton**, simplesmente por fazer parte na minha vida.*

*A **Marilisa Gabardo**, pela compreensão e apoio irrestrito ao meu crescimento pessoal e profissional.*

Agradecimentos especiais

A minha orientadora, **Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury**, agradeço pelo exemplo de caráter e disciplina. Agradeço também a oportunidade de presenciar constantes lições de academia e o exemplo de correta postura de um docente.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen** pelo apoio na realização deste trabalho e ajuda nos momentos decisivos.

Agradecimentos

À **Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)**, na pessoa do Magnífico Reitor, Prof. Dr. José Tadeu Jorge.

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP**, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Thales de Mattos Rocha Filho.

A **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo**, Fapesp, pela bolsa concedida, sob processo 03/03611-9.

A Indústria Farmacêutica **Pfizer**, que gentilmente doou o padrão de fluconazol para a realização deste trabalho.

Aos **Profs. Drs. Rodrigo Nunes Rached e Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa**, pela amizade, apoio e incentivo na vida acadêmica.

À **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, pelo apoio e exemplo a ser seguido.

A área de **Materiais Dentários**, na pessoa do Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho, pelo uso das instalações nas fases iniciais do trabalho.

Aos técnicos **Anderson, Eliane, Marcos, Waldomiro, Alfredo e Adriano** agradeço pelo apoio e compartilhamento de conhecimento.

A secretária do Departamento de Prótese e Periodontia **Shirley Sbravatti Moreto**, e a estagiária **Juliana Souza** pela gentileza e disponibilidade.

A **Erica A. Pinho Sinhoretti**, assistente técnica administrativa da Comissão de Pós-graduação, e **Mônica Vicentine**, secretária do Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica pela atenção dispensada.

À **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Esalq – USP na pessoa de seu diretor Prof. Dr. José Roberto Postali Parra pela utilização das instalações na confecção de parte deste estudo.

Aos Profs. Drs. **Serverino Alencar Matias, Luiz Roberto Pimentel Trevisan e Elliot Watanabe Kitajima**, Esalq - USP, pelo apoio e realização neste trabalho.

Ao amigo **Antonio Carlos Sampaio**, CENA – ESALQ, pela ajuda em parte deste trabalho.

A Profa. Dra. **Rosena Santos da Rosa**, pela introdução na ciência de materiais dentários e pelo apoio durante o decorrer deste trabalho.

Aos amigos pós-graduandos **Cristiane, Fernanda, Daniel, Tatiana, Leo, Emilena, Juliana, Priscila, Alessandra, Caio, Paulo, Lívia, Adriana, Max, Glauber, Renzo, Rodrigo, Simone, Regiane** e **Ramiro** que de alguma forma colaboraram para a realização deste.

A **Dona Joselena Lodi**, responsável técnica pelo Laboratório de Prótese Parcial Removível, pelo apoio e convivência no dia-a-dia.

Pintou estrelas no muro
e teve o céu
ao alcance das mãos.

Helena Colodi

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	2
1 Introdução	3
2 Revisão da Literatura	7
2.1 Candidose.....	7
2.2 Propriedades Físicas da Resina Acrílica	8
2.2.1 Rugosidade Superficial	8
2.2.2 Ângulo de Contato e Energia livre de Superfície.....	9
2.3 Terapêutica.....	13
3 Proposição	19
4 Materiais e Métodos	20
4.1 Delineamento experimental	20
4.2 Confeção dos Corpos-de-prova	21
4.3 Preparo dos Agentes Antifúngicos.....	23
4.3.1 Preparo do Gel Orobace de Extrato Etanólico de Própolis	23
4.3.1.1 <i>Preparo do Extrato Etanólico de Própolis</i>	23
4.3.1.2 Manipulação do Gel Orobace de EEP	24
4.3.2 Preparo da Solução de Fluconazol e Nistatina.....	25
4.4 Tratamento de Superfície	25
4.5 Avaliação da Rugosidade de Superfície	27
4.6 Ângulo de Contato e Energia Livre de Superfície	27
4.7 Dureza Superficial	29
4.8 Cromatografia Líquida de Compostos Liberados.....	29
4.8.1 Análise das Soluções de Armazenagem.....	31
4.8.1.1 <i>Amostras expostas ao gel orobace</i>	31
4.8.1.2 <i>Amostras expostas ao Fluconazol e Nistatina</i>	31
4.9 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	32
4.9.1 Análise dos Espécimes	32
4.10 Análise Estatística	32
5 Resultados	33
6 Discussão.....	52
7 Conclusão	58
Referências	59
Anexos	64

Índice de Tabelas

Tabela 1. Materiais utilizados no desenvolvimento da pesquisa.	20
Tabela 2. Equipamentos utilizados no desenvolvimento da pesquisa.....	20
Tabela 3. Grupos e respectivo agente antifúngico para tratamento de superfície. 26	
Tabela 4. Médias e desvios-padrão de rugosidade superficial (μm) para resina acrílica polimerizada em banho de água. (n=8)	33
Tabela 5. Médias de rugosidade superficial e desvios padrão (μm) para resina acrílica polimerizada com energia de microondas. (n=8)	33
Tabela 6. Médias e desvios padrão de ângulo de contato (grau) para a resina acrílica polimerizada em banho de água (n=8)	35
Tabela 7. Médias e desvios padrão de ângulo de contato (grau) a resina acrílica polimerizada com energia de microondas. (n=8)	35
Tabela 8. Médias e desvios padrão para a energia livre de superfície (erg cm^{-2}) da resina acrílica polimerizada em banho de água. (n=8).....	37
Tabela 9. Médias e desvios padrão de energia livre de superfície (erg cm^{-2}) para resina acrílica polimerizada com energia de microondas. (n=8)	37
Tabela 10. Médias e desvios-padrão de dureza superficial (Kg/mm^2) para resina acrílica polimerizada em banho de água (n=8)	39
Tabela 11. Médias e desvios-padrão de dureza superficial (Kg/mm^2) para resina acrílica polimerizada com energia de microondas. (n=8)	39
Tabela 12. Correlações de Pearson para as variáveis avaliadas.....	42
Tabela 13. Médias e desvios-padrão de compostos liberados (UA) a para resina acrílica polimerizada em banho de água.....	44
Tabela 14. Médias e desvios-padrão dos compostos liberados (UA) para resina acrílica polimerizada com energia de microondas	44

Resumo

Na candidose, ou estomatite induzida por prótese, a *Candida albicans* atua como o patógeno mais importante e mais virulento. A terapêutica indicada no tratamento são os agentes antifúngicos (AA) como Fluconazol (FLU) e Nistatina (NYS) e mais recentemente tem sido indicado soluções a base de própolis. Entretanto, a literatura é escassa sobre os efeitos destes agentes nos materiais utilizados para confecção de bases de próteses. O objetivo deste estudo foi verificar a influência de NYS, FLU, e gel orobase (GO) de própolis sobre a superfície de resinas acrílicas durante período de 14 dias. Água destilada e GO manipulado sem princípio ativo foram utilizadas como grupos controle. Espécimes (3,0 x 2,5 x 0,5 cm) foram fabricados a partir de moldes de cera, com resina acrílica polimerizada em banho de água (Jet Clássico, grupos 1 a 5) ou com energia de microondas (OndaCryl, grupos 6 a 10), ambas processadas de acordo com as instruções dos fabricantes. Após a confecção, os espécimes receberam acabamento e polimento e a rugosidade superficial (RS), ângulo de contato (AC), energia livre de superfície (ELS) e dureza de superfície (DS) foram mensuradas. Os tratamentos de superfície foram feitos com os AA e grupos controles e os espécimes foram escovados com dentifrício e escova macia 3 vezes ao dia durante os 14 dias. Os meios de imersão foram substituídos diariamente. Novas mensurações para as variáveis foram executadas em 3, 7, 10 e 14 dias de exposição. Os compostos dos AA que poderiam ser incorporados à resina acrílica foram mensurados por cromatografia líquida. Os resultados mostraram que a RS aumentou para ambas as resinas acrílicas, mas não diferiram entre si ($p > 0,05$); os grupos G2 e G7, contendo propolis mostraram valores maiores e estatisticamente diferente dos demais agentes nos tempos de T7, T10 e T14 ($p < 0,05$). Também com o passar do tempo os grupos G1, G3, G4 e G8 mostraram valores de rugosidade aumentada e significativamente diferente dos demais tempos ($p < 0,05$, teste de Tukey). Nas análises de cromatografia não foi detectada a presença de FLU ou NYS, assim como não foi detectada diferença entre as resinas acrílicas ($p > 0,05$, teste de Tukey) quanto a compostos do GO. A microscopia eletrônica de varredura mostrou as alterações sobre a superfície dos espécimes após o tratamento. Dentro dos limites deste estudo, é possível concluir que os agentes antifúngicos podem interferir com propriedades da superfície de resina acrílica que são associadas a adesão de *Candida spp.*

Abstract

The high prevalence of candidosis in denture wearers, and its association to *Candida spp.* as principal pathogen is well established. Besides, there are many studies about candidosis etiology, predisposing factors and its treatment using antifungal agents such as Fluconazole (FLU) and Nystatin (NYS). However, little work has been performed to explore the effects of these antifungal agents on acrylic resin surface. The aim of this study was to verify the influence of NYS, FLU, and propolis orobase gel over surface acrylic resins. Distillate water and orobase gel without any active component were used as control groups. Specimens (3.0 x 2.5 x 0.5 cm) were fabricated from wax moulds using heat cured (HC = Clássico; groups 1 to 5) or microwave cured (MW = Onda Cry; groups 6 to 10) acrylics resin, both processed according to manufacturers' instructions. After polymerized the specimens were polished and had their surface roughness (SR), contact angle (CA), surface free energy (SFE) and hardness (HD) measured. The surface treatments were done with antifungal agents and controls. The specimens had their surface toothbrushed 3 times a day during the 14 days of exposure to antifungal agents. The antifungal agents' solutions and gels were replaced daily. Measurements to all variables were performed in days 3, 7, 10 and 14. Components from antifungal agents that could be incorporated to acrylic resin measured with liquid chromatography. The results showed that SR increased for both acrylic resins and the treatment with propolis showed higher values and statistically different from the others ($p < 0.05$). No statistical difference (Tukey test, $p > 0.05$) was found regarding CA and SFE. No presence of FLU or NYS were detected in chromatography and no difference ($p < 0.05$) between acrylic resins were detect to orobase gels detection. Scanning electronic microscopy evaluation showed surface alterations after treatment. Within the limits of this study, it is possible to conclude that antifungal agents are able to interfere with the surface properties of acrylic resins that are associated to *Candida spp.* adhesion.

1 Introdução

Na candidose, ou estomatite induzida por prótese, a *Candida albicans* atua como o patógeno mais importante e mais virulento (Radford *et al.*, 1999). Contudo, outras espécies de candida também são isoladas tais como *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* e *Candida guilliermondi* (Egusa *et al.*, 2000). A prevalência de candidose situa-se entre 11 e 67% dos usuários de próteses dentárias removíveis (Arendorf e Walker, 1987) e a associação da *Candida albicans* como principal patógeno está diretamente relacionada à sua eficiência de aderir e colonizar as superfícies de próteses dentárias.

O sucesso da colonização sobre a superfície da resina acrílica também se relaciona com as propriedades físicas apresentadas por este material, tais como energia livre de superfície e rugosidade superficial. Na matriz polimérica as cadeias internas apresentam-se em equilíbrio dinâmico, uma vez que as cadeias circundantes exercem uma atração de mesma intensidade, ao contrário das cadeias externas onde não há este equilíbrio. Esta diferença de atração molecular nas cadeias externas apresenta uma força resultante denominada energia livre de superfície, que se relaciona com a energia eletrostática da parede celular do microrganismo (Minagi *et al.*, 1985; Radford *et al.*, 1999; Sipahi *et al.*, 2001), que através de ligações iônicas e pontes de hidrogênio, promove a adesão inicial. Após essa interação com a superfície, a *Candida spp.* utiliza-se de filamentos extracelulares para se fixar. Nesse momento ocorre o início da fase de colonização, onde há a formação de micro-colônias e posterior formação de biofilme (Canuto e Gutierrez Roderio, 2002; Radford *et al.*, 1999).

Quando a resina acrílica apresenta rugosidade superficial acima de 0,02 μm , sua superfície torna-se passível de colonização (Bollen *et al.*, 1997; Quirynen *et al.*, 1990; Radford *et al.*, 1999), pois o crescimento em forma micelial da *Candida spp.* faz com esse fungo se desenvolva e se aloje no interior das

ranhuras presentes na superfície de resina acrílica, onde estará livre de forças externas de remoção, como exemplo o efeito auto limpante da saliva, proporcionando um reservatório de fungos para uma posterior reinfecção. Nesta forma de crescimento, a secreção de enzimas hidrolíticas pelo microrganismo (fosfolipases e aspartil-protease) é o fator responsável pela irritação da parede celular epitelial. Isto promove o desencadeamento de um processo inflamatório na mucosa que se caracteriza por aspecto edemaciado e eritematoso, em parte ou em toda a mucosa do palato (Cross *et al.*, 1998).

Visando o restabelecimento da saúde bucal dos pacientes, diversos estudos se dedicam a obter o melhor tratamento para a candidose, cujo tratamento inicial pode incluir a paralisação do uso da prótese; mas, esta opção interfere diretamente no aspecto psicossocial do paciente (Chow *et al.*, 1999). Outras alternativas a isso seriam o uso de antimicrobianos, entre eles a clorexidina, a higiene efetiva da prótese e a remoção noturna; entretanto, todas essas possibilidades dependem da vontade e colaboração do paciente que na grande maioria das vezes é reticente em seguir as recomendações e assim ocorre uma alta reincidência das manifestações clínicas da candidose (Cross *et al.*, 1998).

No tratamento com antifúngicos, agentes poliênicos tais como a nistatina são utilizados topicamente, comercialmente apresentada nas formas de pastilha e suspensão (Blomgren *et al.*, 1998; Egusa *et al.*, 2000; Spiechowicz *et al.*, 1990). A eficiência da nistatina sobre a colonização da *Candida albicans* sobre a superfície da prótese foi verificada *in vitro*, aplicando-se topicamente sobre a superfície de resina acrílica e os resultados obtidos foram satisfatórios na inibição de colonização sobre a superfície (Spiechowicz *et al.*, 1990). A utilização tópica da nistatina (aplicada várias vezes ao dia, durante 14 dias) para o tratamento da candidose, demonstrou-se eficiente, observando-se a eliminação de leveduras e a redução dos sinais clínicos. Porém, 40 dias após a suspensão do tratamento, a colonização por leveduras, e o aspecto edemaciado, atingiu índices semelhantes aos encontrados anteriormente ao tratamento (Bergendal e Isacson, 1980).

Entretanto, a utilização tópica de agentes antifúngicos depende da colaboração do paciente, e a utilização intermitente da droga expõe a cavidade bucal e a prótese dental a níveis inconstantes da droga, comprometendo a sua ação. Associado a esses fatores, a droga pode ter sua disponibilidade reduzida por se diluir em saliva e sofrer a ação mecânica da musculatura bucal, mantendo concentrações abaixo do nível terapêutico preconizado (Egusa *et al.*, 2000).

A medicação sistêmica em infecções bucais é indicada apenas quando não há uma resposta efetiva da medicação tópica, em virtude da grande possibilidade de efeitos colaterais (Chow *et al.*, 1999). Embora os azóis sejam consideradas drogas seguras, sua utilização, como no caso do fluconazol, pode estar associada à hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, principalmente em pacientes com debilidade hepática ou insuficiência renal (Chow *et al.*, 1999; Cross *et al.*, 1998). Mesmo onde há a redução de eritema e da concentração de leveduras após a terapia com fluconazol, o índice de recorrência é alto após tratamento a longo prazo, especialmente nos pacientes que utilizam a droga profilaticamente. Além disso, há possibilidade de ocorrer uma resistência natural a droga (Canuto e Gutierrez Roderio, 2002). Existe também a preocupação do aumento da patogenicidade de espécies menos virulentas que a *Candida albicans*, mas que são resistentes ao fluconazol, como por exemplo, a *Candida krusei* (Cross *et al.*, 1998).

Tendo-se em vista as dificuldades, e os vários fatores que interferem no tratamento da candidose com agentes antifúngicos poliênicos ou azóis, faz-se necessário estudar outras terapias mais eficazes para a candidose, e com menor efeito colateral ao paciente.

Nas últimas décadas, tem-se aumentado o uso de produtos naturais para a prevenção de doenças bucais. Relatos na literatura têm demonstrado que estes produtos apresentam atividade antimicrobiana sobre os patógenos bucais (Koo *et al.*, 2000a) entre eles, a *Candida albicans*. Dos produtos naturais recentemente estudados, a própolis se destaca devido às suas propriedades

farmacológicas de interesse médico, como potencial antifúngico, antioxidante, antiinflamatório, cicatrizante, anestésico e anti-tumoral, e recentemente, a possibilidade de terapia anti-HIV (Harish *et al.*, 1997; Koo *et al.*, 2000a).

Própolis é o nome genérico de uma resina coletada pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* de diversas partes da planta (como broto e botões florais), posteriormente modificado pelas abelhas por meio da adição de secreções próprias. Alguns estudos têm sido publicados quanto à atividade antimicrobiana do extrato etanólico da própolis sobre um amplo espectro de microrganismos patogênicos com destaque para a *Candida albicans* (Koo *et al.*, 2000a).

Desta forma, este estudo propõe-se a avaliar o uso de agentes antifúngicos no tratamento da candidose, quanto a sua influência nos diversos fatores relacionados à adesão de *Candida spp.* sobre a superfície de resina acrílica.

2 Revisão da Literatura

2.1 Candidose

Para Chow *et al.* (1999), a colonização das superfícies mucosas de bases de próteses totais e parciais removíveis por candida, associada à irritação crônica pelo contato das mesmas com a mucosa do palato, pode provocar uma inflamação na mucosa bucal conhecida como candidose, também denominada estomatite por dentadura ou estomatite induzida por prótese.

Arendorf e Walker (1987), após revisão de literatura sobre a candidose, observaram que a mesma é diagnosticada em 11 - 67% dos usuários de próteses, sendo detectada com maior frequência na mucosa do palato de pacientes do sexo feminino. Esta patologia pode ser dividida em três tipos, que diferem quanto à etiologia: Newton tipo I, caracterizada como uma inflamação local, tendo o trauma como um possível responsável; tipos II e III de Newton, onde a mucosa encontra-se com inflamação difusa e sensação de ardência. Para os autores a atuação de diversos fatores faz da candidose uma patologia com etiologia multifatorial. Dentre os fatores que predispoem o paciente a candidose podem ser citados: trauma na mucosa por má adaptação da prótese, falta de limpeza da superfície da prótese, dieta rica em carboidratos, hipossalivação, uso contínuo da prótese, doenças crônicas; comprometimento do sistema imune; reações alérgicas e irritações ao material das bases de próteses; fatores sistêmicos predisponentes, como dieta deficiente, entre elas as resultantes de desordens hematológicas e a infecção sistêmica por *Candida spp.* Os autores relatam ainda, como tratamento para esta patologia, a eliminação dos erros de confecção das próteses, o controle do biofilme e a descontinuação do uso das próteses dentárias.

Radford, Challacombe *et al.* (1999) analisaram o mecanismo e o significado clínico da adesão de *Candida albicans* nas bases de próteses em relação ao biofilme dental e a estomatite causadas por prótese. Neste estudo,

discutiram a etiologia da doença, alegando não haver somente a participação da *Candida albicans* como descrito em estudos anteriores. Em alguns casos, a causa da doença parece estar relacionada com a presença de uma placa não específica. Os autores consideraram a presença de toda a placa dental, sua relação com as bases de prótese e a colonização desta por microrganismos, incluindo a *Candida albicans*. Foi enfatizada a rugosidade superficial e o quanto esse fato altera a adesão dos microrganismos, observando-se a maior aderência em superfícies rugosas e menos polidas. Os pesquisadores concluíram que a aderência da *Candida albicans* ao material das bases de próteses *in vitro* está relacionada à capacidade hidrofóbica do microrganismo e à rugosidade do material. Os autores verificaram que o significado clínico para os resultados observados e o mecanismo do desenvolvimento do biofilme formado por *Candida albicans* ainda têm que ser entendido.

2.2 Propriedades Físicas da Resina Acrílica

2.2.1 Rugosidade Superficial

A maior rugosidade de uma superfície favorece a adesão de microrganismos, uma vez que em uma superfície rugosa, estes estão mais protegidos contra forças que tendem a deslocá-los nas fases iniciais da colonização. Bollen *et al.* (1997) realizaram uma revisão de literatura a respeito da rugosidade superficial de materiais dentários e a relação com retenção de biofilme. Os autores verificaram que materiais com rugosidade acima de 0,02 μm já são passíveis de colonização por microrganismos. Os autores concluíram que cada material deve receber o tratamento de superfície específico para se obter e manter a superfície o mais polida possível, dificultando desta maneira a formação de biofilme.

A avaliação das propriedades físicas da resina acrílica foi objeto de estudo de Braun *et al.* (2003) que verificaram os efeitos do polimento mecânico

sobre resinas acrílicas termo e autopolimerizáveis em relação a liberação de monômero residual, dureza Knoop, resistência a compressão e textura superficial. Os resultados apresentados demonstraram que o polimento químico foi responsável pelo aumento na taxa de liberação de monômero residual, porém não afetou a resistência a compressão significativamente. Os autores ainda afirmaram que a dureza Knoop dos materiais foi reduzida após o armazenamento em água.

No estudo apresentado por Del Bel Cury *et al.* (2001) foram avaliadas a liberação de monômero residual, dureza Knoop e resistência transversal para duas resinas acrílicas, entre elas a Onda Cryl, processadas através da inclusão com duas diferentes técnicas: gesso ou gesso-silicone. Os resultados demonstraram que o tempo de armazenamento não alterou significativamente os valores de dureza dos grupos avaliados. Os valores obtidos para dureza Knoop após 24 h para os grupos com Onda Cryl foram OS = $18,41 \pm 1,0$ e OG = $16,04 \pm 0,6$. A resistência transversal para ambas as resinas não foi afetada pela técnica empregada. A técnica de gesso-silicone foi responsável pela alteração de valores para a liberação de monômero residual e dureza Knoop no 2º e 5º dias de análise.

O efeito sobre a dureza Knoop, liberação de monômero residual e porosidade em resinas acrílicas polimerizadas por energia de microondas foi verificado no trabalho apresentado por Oliveira *et al.* (2003). Os autores variaram a posição e quantidade de muflas no interior do forno de microondas. Os resultados obtidos não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos avaliados para dureza ou porosidade. A liberação de monômero residual foi, segundo os autores, afetada pela porosidade.

2.2.2 Ângulo de Contato e Energia livre de Superfície

A descrição do processo de adesão proposto por Quirynen *et al.* (1990) relata que a adesão inicial de microrganismos sobre a superfície da prótese

ocorre por interações específicas como ligações iônicas e interações tipo pontes de hidrogênio. Posteriormente à interação com a superfície da prótese, o microrganismo utiliza filamentos extracelulares para fixar-se à mesma e inicia-se a fase de colonização da superfície, onde ocorre o desenvolvimento de micro-colônias e a formação de biofilme. Durante o processo de colonização, o microrganismo, para alcançar e interagir com o substrato acrílico necessita remover a película adquirida, formada pela adsorção seletiva de glicoproteínas salivares, que se forma imediatamente após o contato da saliva com a superfície da prótese.

Para Sipahi *et al.* (2001) a formação desta película sobre a superfície da prótese está diretamente associada à sua capacidade de molhamento que é regulada pela energia livre de superfície. Assim, a presença da camada de compostos orgânicos interfere diretamente sobre a superfície de resinas acrílicas utilizadas para a confecção de próteses, influenciando a adesão da candida sobre o material. Os mesmos autores realizaram um estudo onde avaliaram o efeito da saliva e a energia livre de superfície dos diferentes materiais de bases de próteses, utilizando cinco tipos de resinas acrílicas e dois tipos de materiais de bases para próteses, onde confeccionaram e poliram corpos-de-prova de cada material seguindo um único padrão. A saliva total foi coletada pela estimulação de um voluntário saudável. A energia livre de superfície dos materiais foi mensurada antes e após a formação da camada orgânica sobre os corpos-de-prova. Para tanto foram mensurados o ângulo de contato de diferentes substâncias líquidas (di-iodometano, etileno glicol e formamida). A energia livre de superfície foi calculada usando uma equação específica. A diferença das energias entre os diferentes materiais foi calculada por método estatístico. Resinas acrílicas levemente tratadas foram as que apresentaram maior capacidade de molhamento. O tratamento da superfície com saliva apresentou um efeito homogêneo em termos de energia livre de superfície dos materiais avaliados, e as propriedades adesivas dos microrganismos foram influenciadas pelo substrato.

Minagi *et al.* (1985), verificaram *in vitro* os efeitos da hidrofobia da superfície dos substratos na aderência fúngica utilizando a *Candida albicans* e *Candida tropicalis* como agentes colonizadores e uma variedade de resinas acrílicas comumente utilizadas na confecção de próteses. Nesse estudo, foram encontrados valores de ângulo de contato que variam de 90° a 69° para resinas acrílicas termopolimerizáveis e valores de 76° a 73° para resinas acrílicas autopolimerizáveis. Com o aumento da energia livre de superfície dos corpos-de-prova de resina acrílica houve um aumento da aderência de *Candida albicans* e um decréscimo da aderência de *Candida tropicalis*. No cálculo de variações de energia livre acompanhando a aderência, uma maior tendência de aderência foi acompanhada por uma maior redução na energia livre de superfície em ambas espécies.

Busscher *et al.* (1983) realizaram um estudo onde verificaram o efeito da pressão de deposição da gota séssil sobre a determinação da energia livre de superfície por meio da leitura ângulo de contato. Os autores utilizaram como líquidos de referência o α -bromonaftaleno, o n-propanol e a água destilada. Entre os materiais que tiveram suas superfícies avaliadas estava a resina acrílica. Os autores concluíram que dentre os métodos utilizados para a mensuração da energia livre de superfície, a pressão empregada na deposição da gota deve ser um fator a ser considerado. Com metodologia semelhante, Van Der Valk *et al.* (1983) e Schakenraad *et al.* (1986) avaliaram a relação entre a energia livre de superfície de polímeros e o crescimento celular de fibroblastos sobre estas superfícies. Os resultados obtidos pelos dois trabalhos são antagonistas uma vez que os autores Van Der Valk *et al.* (1983) afirmaram que não há relação entre a energia livre de superfície e o crescimento celular.

Busscher *et al.* (1984) analisaram o efeito da rugosidade superficial de polímeros sobre o ângulo de contato de diferentes líquidos. Entre os polímeros avaliados estava presente o poli-metil-meta-acrilato. Os autores ressaltaram que a rugosidade não produz efeitos sobre o ângulo de contato quando seu valor se encontra abaixo de 0,1 μm . Demonstram ainda que há uma tendência

inversamente proporcional entre a rugosidade superficial e o valor do ângulo de contato para a superfície analisada.(Van Der Valk *et al.*, 1983)

Kilani *et al.* (1984) avaliaram através da mensuração do ângulo de contato de água destilada e de saliva artificial o molhamento de diferentes materiais utilizados na confecção de próteses dentárias. Os valores médios obtidos para a resina acrílica polimerizada em banho de água para água destilada foi de $64,3 \pm 3,8^\circ$. Os autores ainda discutiram a relação inversamente proporcional entre a rugosidade e o ângulo obtido.

Monsenego *et al.* (1989) utilizaram a leitura de ângulo de contato de água destilada sobre a superfície de corpos-de-prova de resina acrílica para a mensuração do molhamento destes materiais. O valor médio obtido para a resina acrílica polimerizada em banho de água foi de 64° . Os autores relataram a queda deste valor após a imersão e armazenamento dos corpos-de-prova em água destilada.

No trabalho apresentado por Combe *et al.* (2004), foram analisados os diversos protocolos para a determinação da energia livre de superfície de materiais dentários. Foi utilizada a interação entre vários líquidos de propriedades diferentes como bromo-naftaleno, di-iodometano, etileno-glicol, formamida, glicerol e água destilada. Os autores verificaram que entre os métodos empregados para o cálculo da energia livre da superfície deve ser preferível o uso concomitante dos seis líquidos avaliados.

A comparação de diferentes métodos para o cálculo da energia livre de superfície através do ângulo de contato também foi pesquisada por Gindl *et al.* (2001). Neste trabalho, os autores discutem o uso de cinco diferentes equações matemáticas utilizadas para a obtenção da energia livre de superfície de sólidos, onde se avaliou a energia livre de superfície de uma amostra de madeira. Entre os métodos propostos estava o preconizado por Neumann *et al.* (1974) que consiste da utilização de um líquido com tensão superficial conhecida na avaliação da energia livre. Os resultados mostram que o fator principal está na correta escolha

dos líquidos empregados devido a sua interatividade com a superfície a ser avaliada.

2.3 Terapêutica

Visando o restabelecimento da saúde bucal dos pacientes, diversos estudos se dedicaram a obter o melhor tratamento para a candidose. Para Chow *et al.* (1999) o passo inicial no tratamento seria a paralisação do uso da prótese. Porém, segundo os autores, esta opção interferiria diretamente no aspecto social e funcional do paciente. Eles afirmaram ainda que a medicação sistêmica em infecções bucais é indicada apenas quando não há uma resposta efetiva da medicação tópica, em virtude da grande possibilidade de efeitos colaterais. Embora consideradas drogas seguras, o uso de drogas sistêmicas como fluconazol e itraconazol pode estar associado à hepatotoxicidade e à nefrotoxicidade, principalmente em pacientes com debilidade hepática ou insuficiência renal, respectivamente.

Mesmo ocorrendo a redução do eritema e da concentração de leveduras após o tratamento com fluconazol, o índice de recorrência é alto após o tratamento a longo prazo, especialmente nos pacientes que utilizam a droga profilaticamente. Existe também a preocupação do aumento da patogenicidade de espécies menos virulentas que a *Candida albicans*, mas que são resistentes ao fluconazol, como por exemplo a *Candida krusei* (Cross *et al.*, 1998).

Adicionalmente, no estudo apresentado por Canuto e Gutierrez Roderio (2002) os autores discutem através de revisão de literatura a resistência dos microrganismos aos antifúngicos disponíveis no mercado, como os azóis e o poliênicos. Os autores apresentam o mecanismo de ação dos poliênicos e azóis e citam os fatores responsáveis pela resistência a estes medicamentos. Os autores relatam a possibilidade do uso combinado destas drogas e citam os estudos sobre o controle para o uso indiscriminado dos agentes antifúngicos. Os autores demonstram que a exposição contínua ao fluconazol levou algumas espécies de

candida a apresentarem resistência natural a esta droga. Resultado similar foi obtido pela revisão realizada por Patton *et al.* (2001).

Nesta linha, Copping *et al.* (2005) apresentam por meio de ensaios de biologia molecular os efeitos da subexposição de cepas de *Candida spp.* ao fluconazol onde resultados demonstram a ativação de genes que controlam a secreção de enzimas responsáveis pela agressão a mucosa oral. Os resultados mostram a ativação do gene responsável pela adesão sendo que os autores concluem que a exposição a concentrações sub-terapêuticas é responsável pelo aumento da patogenicidade da espécie de *Candida spp.*

Ellepola e Samaranayake (1999) avaliaram o efeito pós-antifúngico da nistatina frente a diversas espécies de cândida. Este efeito é definido como a supressão do crescimento após a exposição por um período de tempo ao agente antifúngico. Neste estudo o efeito pós-antifúngico foi determinado como a diferença (em horas) necessária para o crescimento do microrganismo entre o grupo controle e os grupos expostos ao agente antifúngico. Além desta variável os autores verificaram também a concentração mínima inibitória da nistatina para diferentes espécies de cândida. Os valores obtidos para a concentração inibitória mínima foram para as espécies *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. guilliermondii* foi de 0,78–1,56, 1,56–3,12, 3,12, 1,56–3,12, 0,78–1,56 e 0,39–0,78 µg/mL respectivamente. Os autores concluem que as variações de nistatina com relação ao efeito pós-antifúngico nas diversas espécies avaliadas podem ter implicações clínicas com relação ao tratamento da candidose.

Bergendal e Isacsson (1980) avaliaram o efeito da nistatina no tratamento de 48 pacientes com candidose. Os pacientes foram examinados em três ocasiões distintas, a primeira no início do experimento, a segunda 14 dias após o início do tratamento e no 28º dia após a suspensão do tratamento. Os pacientes foram instruídos para fazer uso de nistatina três vezes ao dia durante 14 dias. Os resultados apresentados demonstraram a redução dos aspectos clínicos de inflamação após os 14 dias de tratamento, porém no 28º dia notou-se a

recorrência dos sinais de inflamação nos mesmos níveis dos encontrados anteriormente ao tratamento.

Blomgren *et al.* (1998) compararam a eficácia clínica no tratamento de candidose com nistatina e fluconazol em 60 pacientes acometidos por esta patologia. Exames clínicos foram realizados aos 7 e 21 dias após o exame inicial, e mensalmente nos 6 meses seguintes. Os autores concluíram que não houve diferença nos resultados dos tratamentos com os dois fármacos, porém a aceitação do fluconazol pelos pacientes foi melhor. A recorrência dos aspectos clínicos ocorreu em ambos os grupos.

No trabalho apresentado por Force e Nahata (1995) foram avaliados com cromatografia líquida de alta eficiência, a concentração na saliva de fluconazol e cetoconazol com objetivo de explicar a diferença entre os estudos in vitro e os resultados clínicos entre estas duas drogas. Oito voluntários foram divididos em dois grupos que receberam as respectivas drogas. Amostras de saliva foram colhidas após 0, 1, 2, 3, 6, 12, e 24 horas. O valor máximo encontrado na saliva para fluconazol e cetoconazol foi de $2,56 \pm 0,34$ e $0,119 \pm 0,050$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Os autores concluem que após uma única dose por via oral, o fluconazol apresentou as maiores concentrações na saliva, sendo este fator a explicação na maior eficácia desta droga quando comparada ao cetoconazol no tratamento da candidose.

Na pesquisa realizada por Foulds, Brennan *et al.* (1988), pacientes que foram submetidos a doses intravenosas diárias de 50 mg/d de fluconazol durante 06 dias tiveram amostras do fluido cérebro-espinhal recolhidas. Nestas amostras, dosou-se pela cromatografia líquida de alta performance, a concentração de fluconazol. A concentração obtida (1,26 mg/L), segundo os autores, seria significativa para casos de tratamento de meningites.

Egusa *et al.* (2000) verificaram que a utilização tópica de agentes antifúngicos depende diretamente da colaboração do paciente, e a utilização intermitente, expõe a cavidade bucal e a prótese a níveis inconstantes da droga, comprometendo a sua ação. Associado a esses fatores, a ação de diluição da

saliva e ação mecânica da musculatura bucal reduzem a disponibilidade da droga, levando a manutenção de concentrações abaixo do nível terapêutico preconizado. Baseados nestes achados, os autores realizaram a exposição de isolados de *candida spp.* a baixas concentrações com o intuito de verificar o efeito na adesão a superfície de resina acrílica. Os autores concluem que a exposição a concentração menor de poliênicos foi capaz de diminuir a adesão inicial dos microrganismos.

Spiechowicz *et al.* (1990), por meio de estudo *in vitro*, verificaram a eficiência da nistatina sobre a colonização de *Candida albicans* sobre a superfície da prótese. Aplicada topicamente sobre espécimes de resina acrílica e secada ao ar, este antifúngico apresentou resultados satisfatórios na inibição de colonização sobre a superfície.

Ostrosky-Zeichner *et al.* (2001), avaliaram a atividade antifúngica da forma isomérica da nistatina. Esta dissociação em dois compostos distintos foi verificada através de cromatografia líquida de alta eficiência. A análise microbiológica por meio dos testes de tempo de morte celular e concentração inibitória mínima sugeriu que a forma isomérica da nistatina possui menor atividade contra as espécies de *candida* avaliadas.

Nas últimas décadas têm sido observada um crescente uso de produtos naturais para prevenção de doenças bucais. Diversos relatos na literatura têm demonstrado que estes produtos apresentam atividade antimicrobiana sobre os patógenos bucais, entre eles a *Candida albicans*. A descoberta de novos produtos naturais e de seus compostos com atividade antimicrobiana é de grande importância. Dentre os produtos naturais recentemente estudados, a própolis se destaca devido às suas propriedades farmacológicas de interesse médico, assim como potencial antibacteriano, antioxidante, antiinflamatório, cicatrizante, anestésico e anti-tumoral (Koo *et al.*, 2000a; Koo *et al.*, 2000b).

Koo *et al.* (2000a) avaliaram a atividade antimicrobiana “*in vitro*”, inibição da aderência do microrganismo *Streptococcus mutans* e inibição da

formação de glucanos insolúveis em água, utilizando a espécie vegetal *Arnica montana* e extratos etanólicos de própolis de Minas Gerais. Os extratos de própolis inibiram significativamente todos os microrganismos testados sendo o extrato de própolis do tipo III o com maior espectro de ação antimicrobiana. Entretanto os extratos de *Arnica montana* não mostraram uma atividade antimicrobiana significativa. Os autores constataram que o extrato de própolis mostrou atividade antimicrobiana, inibição da aderência celular e inibição da formação de glucanos insolúveis em água, enquanto que o extrato de *Arnica montana* foi pouco ativo nestas mesmas três condições.

Koo *et al.* (2000b) avaliaram o efeito de uma nova variedade de própolis do Nordeste do Brasil (BA) sobre o crescimento do microrganismo *Streptococcus mutans*, aderência celular e síntese de glucanos insolúveis em água. Neste trabalho os autores também testaram as própolis do sudeste (MG) e sul (RS) do Brasil. O perfil da nova variedade de própolis foi totalmente diferente das própolis do Sudeste e Sul, não sendo detectado nenhum flavonóide ou ácido cumárico. Todos os EEPs demonstraram atividade biológica contra o microrganismo *Streptococcus mutans*, entretanto o EEP da Bahia mostrou 80% de inibição da aderência celular e baixa síntese de glucanos insolúveis. Os autores concluíram que a nova variedade de própolis foi excepcionalmente efetiva em todos os parâmetros testados “in vitro” contra o microrganismo *S. mutans*, e que os efeitos biológicos não estão relacionados somente com flavonóides e derivados do ácido cinâmico.

Harish *et al.* (1997) avaliaram a possibilidade da supressão da replicação do vírus HIV-1 juntamente com a modulação das respostas imunes *in vitro*. Células de epitélio de camundongo foram tratadas com concentrações não tóxicas de própolis após a contaminação com o vírus. Os autores concluíram que a própolis pode representar um produto com efeitos imuno-regulatórios e anti HIV-1.

Milillo *et al.* (2005) avaliaram através de estudo-piloto o uso de amorolfina no tratamento de candidose resistentes ao tratamento com nistatina. O

verniz manipulado com este produto natural foi aplicado entre uma ou duas vezes semanais na superfície interna da prótese de 06 pacientes. Os resultados apresentaram um controle satisfatório de espécies de cândida associada a eficácia no tratamento com este produto natural

3 Proposição

O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, o efeito da aplicação da Nistatina, Fluconazol e extrato etanólico de própolis de *Apis mellifera* quanto às propriedades físicas de rugosidade, energia livre de superfície e a mensuração dos componentes dos agentes antifungicos que poderão incorporar-se à resina acrílica.

4 Materiais e Métodos

Os materiais e equipamentos utilizados neste trabalho estão detalhados nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Materiais utilizados no desenvolvimento da pesquisa.

Produto	Fabricante
Resina acrílica Jet Clássico	Clássico Artigos Odontológicos Ltda
Resina acrílica Onda Cryl	Clássico Artigos Odontológicos Ltda
Extrato Etanólico de Própolis	Própolis tipo 3, Rio Grande do Sul
Nistatina	Sigma- Aldrich
Fluconazol (UK-049858)	Pfizer

Tabela 2. Equipamentos utilizados no desenvolvimento da pesquisa.

Equipamento	Fabricante
Mufla Metálica	Dental Campiniera
Mufla Plástica	Clássico Artigos Odontológicos Ltda
Vibrador de Gesso	Dental Campineira
Manipulador de Gesso	Dental Campineira
Microondas Sensor Crisp 38 (800 w)	Brastemp
Ultra-som Thornton T7,	Inpec Eletrônica
Estufa de Cultura 502	Farem
Máquina digital Mavica CD350	Sony – Japão
Rugosímetro Surf Corder SE 1700	Kosakalab
Centrifuga refrigerada J2-2	Beckman
Politriz APL-4	Arotec
Evaporador rotativo Q344B2	Quimis
Pipeta 0-20	Gilson

4.1 Delineamento experimental

Espécimes confeccionados com duas resinas acrílicas, sendo uma polimerizada em banho de água quente (Jet Clássico) e a outra polimerizada com energia de microondas (Onda Cryl), após terem sido submetidos ao acabamento e polimento foram imersos em água destilada durante uma semana. Decorrido esse período tiveram suas superfícies avaliadas quanto a rugosidade superficial, ângulo de contato, energia livre de superfície, dureza Knoop e análise por microscopia eletrônica de varredura, sendo esta avaliação denominada T0. Em seguida as

amostras foram divididas aleatoriamente em 10 grupos, contendo 8 espécimes em cada grupo e tratados com três agentes antifúngicos (gel Orobace de extrato etanólico de própolis, Nistatina, Fluconazol) e dois agentes controles ou placebos (Gel Orobace sem o extrato etanólico de própolis e água deionizada e destilada). Para isso, os espécimes foram imersos nestes agentes e as avaliações de rugosidade superficial, ângulo de contato, energia livre de superfície, dureza superficial e análise por microscopia eletrônica de varredura foram reavaliadas nos tempos T3, T7, T10 e T14, correspondentes aos dias de imersão nos tratamentos. A liberação dos agentes antifúngicos que por ventura tenham se incorporados nas resinas foram verificados nos períodos de 3, 7, 10 e 14 dias de liberação com auxílio de cromatografia líquida. A microscopia eletrônica de varredura foi realizada após 14 dias de tratamento.

4.2 Confeção dos Corpos-de-prova

Duas resinas acrílicas, uma polimerizada em banho de água (Jet Clássico) e a outra polimerizada com energia de microondas (Onda Cryl) foram utilizadas para a confecção dos espécimes para verificar a ação dos tratamentos pelos ensaios de rugosidade superficial, ângulo de contato, energia livre de superfície, dureza superficial, análise cromatográfica de compostos liberados e microscopia eletrônica de varredura. Discos em cera nas dimensões 30 mm de diâmetro e 5,0 mm de espessura foram confeccionados a partir de molde em aço inox. Estas matrizes circulares foram reduzidas para as dimensões (25 x 3,0 x 0,5 mm) (figura 1 A e B) e incluídas em muflas metálicas ou plásticas, gerando moldes em gesso nos quais as resinas acrílicas foram inseridas na fase plástica. O preparo das resinas foi de acordo com as instruções dos fabricantes na proporção de 21 g de polímero para 7 mL de monômero. Após a inserção das resinas, as muflas contendo as resinas Jet Clássico e Onda Cryl foram polimerizadas em polimerizadora Termotron durante 9 horas a 65° C ou durante 3 minutos a 40% de potência, 4 minutos de pausa seguidos de três minutos a 90% de potência

respectivamente. Após o término do período de polimerização as muflas permaneceram sobre a bancada durante duas horas e após o esfriamento foram abertas, os espécimes retirados e uma de suas faces foi submetida ao acabamento em politriz (AROTEC, modelo APL-4, São Paulo, Brasil), com lixas d'água, sob refrigeração constante, nas granulações de 320, 400, 600 e 1200 seguido do polimento com disco de feltro e pedra pomes (01 minuto) e branco de Espanha (01 minuto). Para os corpos-de-prova submetidos ao ensaio de dureza Knoop, além do acabamento já descrito, uma de suas faces foi submetida ao polimento com pasta de diamante (3 μm) e disco de feltro em politriz durante 02 minutos. Após o polimento, os corpos receberam banho de ultra-som (Thornton, modelo T7, Inpec Eletrônica Ltda., São Paulo, Brasil) por 10 minutos para limpeza da superfície.

Após o acabamento e polimento, os espécimes foram armazenados em água destilada a 37 °C por uma semana para eliminação de monômero residual (Oliveira *et al.*, 2003). Em seguida divididos aleatoriamente em 10 grupos contendo oito (08) espécimes cada de acordo com os tratamentos. Primeiramente os espécimes foram avaliados quanto a rugosidade superficial, ângulo de contato, energia livre de superfície, dureza Knoop, e análise da microscopia eletrônica de varredura, sendo esta avaliação denominada T0.

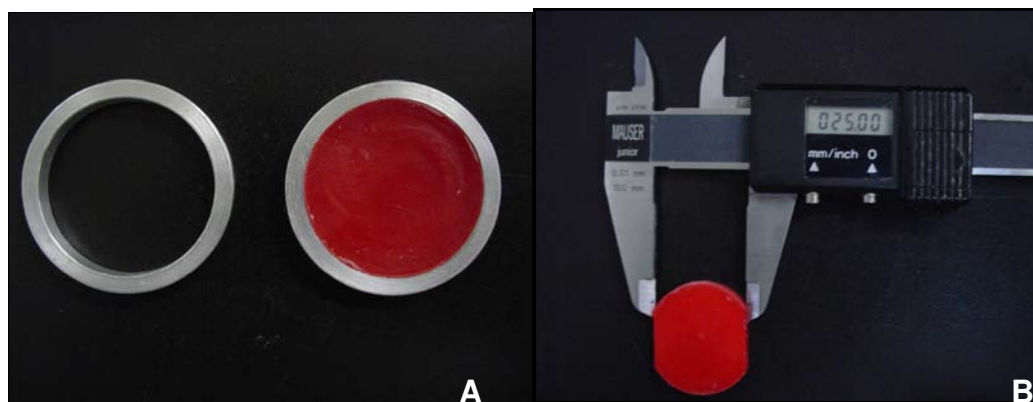


Fig. 1 A e B. Obtenção do molde de cera e dimensões do molde para confecção dos espécimes em resina acrílica.

4.3 Preparo dos Agentes Antifúngicos

4.3.1 Preparo do Gel Orobace de Extrato Etanólico de Própolis

4.3.1.1 Preparo do Extrato Etanólico de Própolis

Quinhentos gramas de própolis tipo 3, com sua ação antimicrobiana avaliada (anexo 2), foram pesados, triturados em liquidificador e acondicionados em béquer (figura 2 A e B). Neste béquer foram adicionados 1000 mL de uma solução de etanol 80% (v/v) e uma maceração foi realizada sob agitação em temperatura de 70°C por 30 minutos. Em seguida essa mistura foi centrifugada 10,000 x g (Beckman, modelo J2-2, Palo Alto, CA, Estados Unidos) durante cinco minutos em temperatura de 4°C. O sobrenadante foi coletado e armazenado em frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado. Um novo procedimento para extração foi repetido a partir do precipitado (própolis macerada), utilizando-se o mesmo volume de etanol 80% (v/v). Após a segunda centrifugação, os sobrenadantes provenientes das duas macerações foram misturados. Essa mistura foi concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotativo (Quimis, modelo Q344B2, Diadema, SP, Brasil) para que houvesse evaporação do solvente (figura 3). No concentrado ficaram apenas os componentes extraídos pelo etanol 80% (v/v). A partir deste concentrado, a solução inicial de própolis a 20% (v/v) foi preparada.

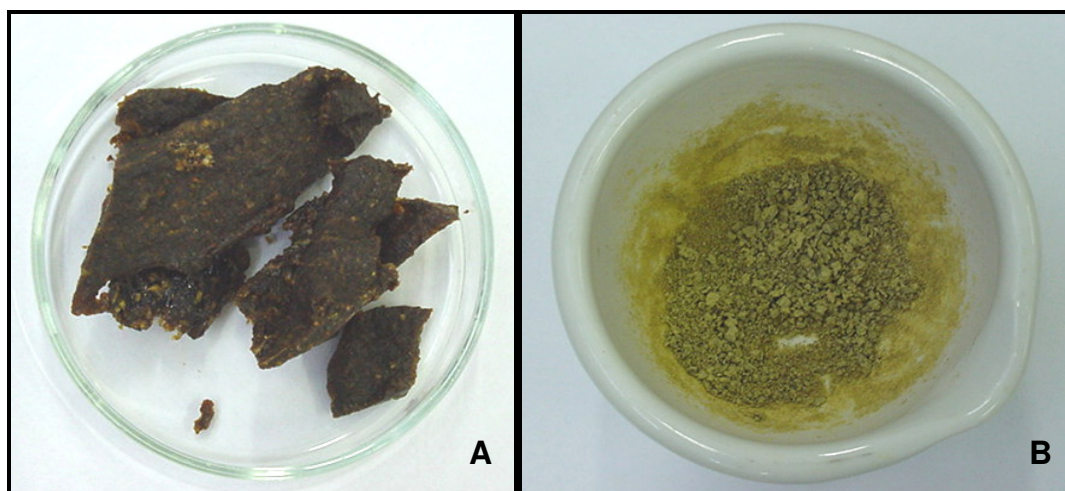


Fig. 2 A e B. Própolis bruta e Própolis macerada.



Fig. 3. Evaporador rotativo usado na concentração do EEP.

4.3.1.2 Manipulação do Gel Orobace de EEP

Para o preparo de 1500 g de gel em orobase, preparou-se a Tintura – Mãe (TM) de própolis. Para isto, 20g de EEP foram dissolvidos em 100mL de etanol a 80% (v/v), obtendo-se desta maneira uma solução a 20%. A partir da TM, 75 mL foram misturados com 15 mL de glicerina e 1500g de gel base de carbopol, obtendo-se um gel com concentração final de 1,0% de própolis (figura 4). Após homogenização, o gel foi aliquotado e armazenado para uso posterior. Esta concentração de 1,0% de EEP do gel em orobase permitiu a cada porção de 40 μ L a concentração de 400 μ g de própolis.



Fig. 4. Gel em orobase de EEP.

4.3.2 Preparo da Solução de Fluconazol e Nistatina

Para o preparo das soluções de fluconazol e nistatina inicialmente foram preparadas soluções de estoque na concentração de 5120 $\mu\text{g/mL}$ (figura 5). Em uma balança analítica foram pesados 512 mg do padrão de fluconazol ou nistatina, e esta quantia dissolvida em balão volumétrico de 100 mL em água destilada e deionizada. Para o preparo das soluções utilizadas nos ensaios, 0,25 mL da solução de estoque de fluconazol foi dissolvida em água destilada e deionizada um balão volumétrico de 500mL resultando em uma concentração final de 2,56 $\mu\text{g/mL}$. Este procedimento foi repetido para solução de nistatina sendo dissolvidos 0,305 mL da solução de estoque, resultando em uma solução com concentração de 3,12 $\mu\text{g/mL}$. Para análise dos compostos liberados das amostras imersas nas soluções de fluconazol e nistatina em cromatografia líquida, foram preparadas soluções 10 vezes mais concentradas, ou seja de 256 e 312 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.



Fig. 5. Soluções de estoque de Nistatina e Fluconazol.

4.4 Tratamento de Superfície

Os corpos-de-prova foram aleatoriamente distribuídos e, acondicionados individualmente em tubos plásticos do tipo Falcon, contendo 25mL

de Fluconazol ou Nistatina ou 25 g de Gel de EEP e hermeticamente fechados, durante 14 dias a 37°C e ao abrigo da luz. As avaliações da rugosidade superficial, medida do ângulo de contato, energia livre de superfície foram realizadas nos tempos T3, T7, T10 e T14. A análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV) foi realizada ao final da última análise (T14). Com o objetivo de simular a higienização das próteses que é realizada normalmente pelos usuários, os espécimes eram removidos dos tubos Falcon e limpos com auxílio de escova macia e dentífrico (Colgate-Palmolive Ind. e Com. Osasco, São Paulo, Brasil). Essa limpeza da superfície foi realizada por um único operador durante 05 segundos com movimentos circulares da escova em três períodos: manhã, meio dia e a noite. A pressão aplicada foi padronizada de modo que não ocorresse a deformação das cerdas. A substituição da escova foi feita sempre que qualquer alteração na forma de suas cerdas foi detectada, impedindo a danificação da superfície da resina acrílica pela escova. Na tabela 3 estão apresentados os grupos e respectivos tratamentos.

Tabela 3. Grupos e respectivo agente antifúngico para tratamento de superfície.

Código	Resina Acrílica (polimerização)	Agente Antifúngico
Grupo 1	Banho de água	Gel orobase sem o princípio ativo (própolis)
Grupo 2	Banho de água	Gel orobase com princípio ativo (própolis)
Grupo 3	Banho de água	Água destilada
Grupo 4	Banho de água	Nistatina
Grupo 5	Banho de água	Fluconazol
Grupo 6	Energia de microondas	Gel orobase sem o princípio ativo (própolis)
Grupo 7	Energia de microondas	Gel orobase com princípio ativo (própolis)
Grupo 8	Energia de microondas	Água destilada
Grupo 9	Energia de microondas	Nistatina
Grupo 10	Energia de microondas	Fluconazol

4.5 Avaliação da Rugosidade de Superfície

A rugosidade de superfície média de cada espécime foi mensurada através de rugosímetro Surf Corder SE 1700 (Kosakalab, Tóquio, Japão) agulha com precisão de $0,0001\ \mu\text{m}$, velocidade de percurso de $0,5\ \text{mm/s}$, com temperatura ambiente de $23\pm 3^\circ\text{C}$. Três mensurações com $3,2\ \text{mm}$ de comprimento em três diferentes posições (superior, média, inferior) para cada espécime foram realizadas e o valor médio considerado o valor de rugosidade superficial para o referido espécime (figura 6).

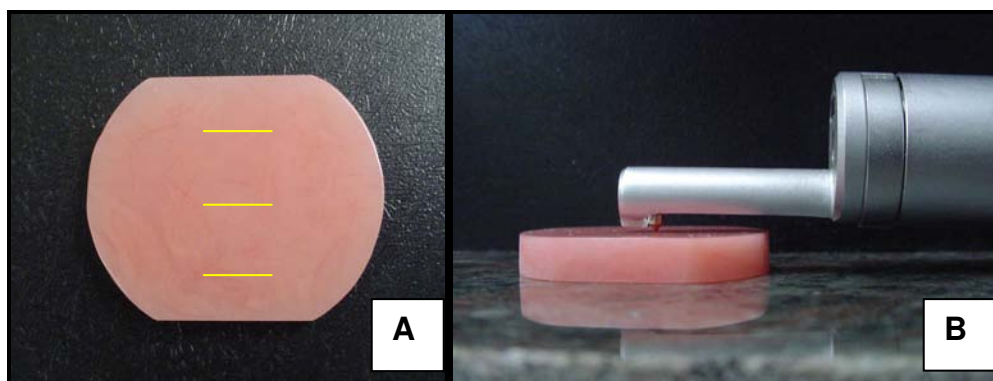


Fig. 6. A e B. Locais de mensuração no corpo de prova e posição do corpo de prova no rugosímetro.

4.6 Ângulo de Contato e Energia Livre de Superfície

Para mensuração da energia livre de superfície, uma gota de água destilada deionizada ($15\mu\text{L}$) foi depositada com o auxílio de uma micropipeta ($20\mu\text{L}$ - Gilson) sobre a superfície de cada corpo de prova sob temperatura ($23\pm 3^\circ\text{C}$) e umidade constantes.

A imagem da gota séssil formada foi capturada por uma máquina digital Mavica CD-350 (SONY, Tóquio, Japão) imediatamente após a sua deposição. O ângulo de contato foi obtido pela leitura da imagem capturada (figura 7) no programa Autocad 2005 (Auto Desk, Sankt Augustin, Estados Unidos).

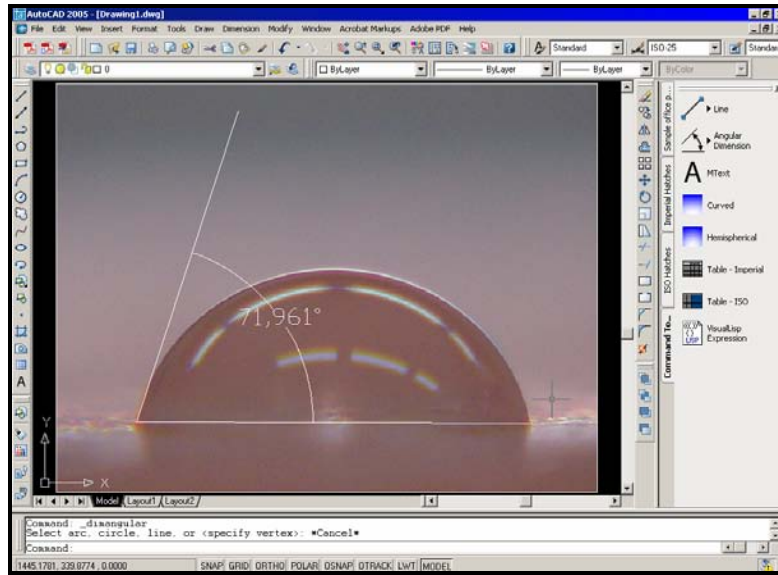


Fig. 7. Gota sêssil de água destilada sobre a superfície de resina acrílica polimerizada em banho de água e respectiva mensuração do ângulo de contato.

A partir do ângulo de contato obtido, o coseno do respectivo ângulo foi utilizado para a obtenção do valor de energia livre de superfície. Segundo, Gindl, *et al.*, 2001, Neumann obteve uma equação para a obtenção da tensão para sólido-líquido (γ_{sl}): (Neumann *et al.*, 1974)

$$\gamma_{sl} = \gamma_l + \gamma_s - 2\sqrt{\gamma_l \gamma_s} \exp^{-\beta(\gamma_l - \gamma_s)^2} \quad [1]$$

onde β é uma constante com valor de $0,0001057 \text{ erg.cm}^{-2}$, γ_s é a energia livre de superfície do sólido e γ_l é a tensão superficial conhecida de um líquido. (Gindl *et al.*, 2001) Quando γ_{sl} é isolado na equação de Young [2] e substituído na equação [1] que resulta na equação [3].

$$\gamma_l \cos(\Theta) = \gamma_s - \gamma_{sl} \quad [2]$$

Esta equação [3] permite calcular a energia livre de um sólido em função do coseno do ângulo de contato (Θ) obtido de um líquido com conhecida tensão superficial.

$$\cos(\Theta) = -1 + \frac{2\sqrt{\gamma_s} \exp^{-\beta(\gamma-\gamma_s)^2}}{\gamma_s} \quad [3]$$

4.7 Dureza Superficial

A dureza superficial foi mensurada utilizando-se um microdurômetro (Shimadzu, modelo HMV-2000, Kyoto, Japão), com carga de 25 gramas e tempo de aplicação de 5 segundos. Cinco mensurações, distanciando-se 150 μm entre cada, foram realizadas e o valor médio considerado o valor de dureza superficial para o referido espécime (figura 8).

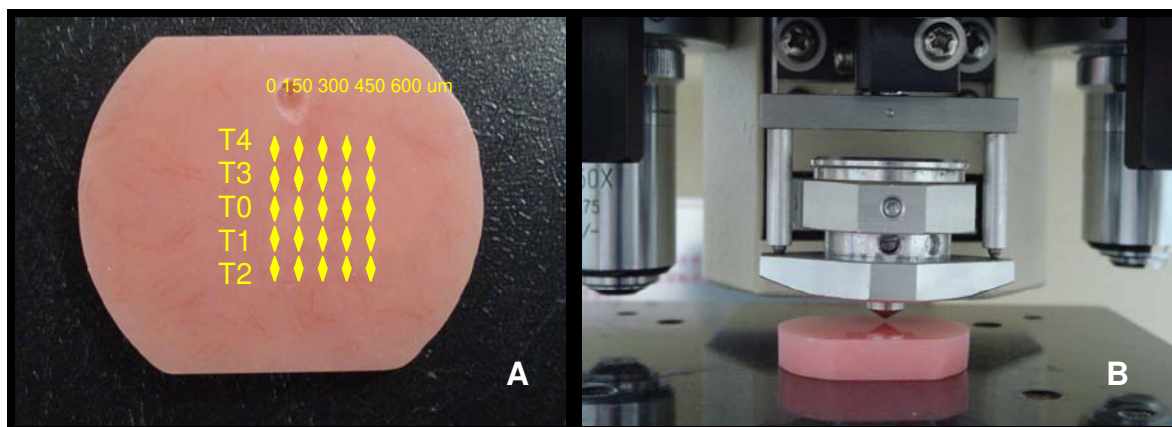


Fig. 8. A e B. Locais de edentação no corpo de prova e posição do corpo de prova no microdurometro.

4.8 Cromatografia Líquida de Compostos Liberados

Os corpos-de-prova acondicionados individualmente em tubos plásticos hermeticamente fechados do tipo Falcon, foram expostos aos agentes antifúngicos conforme os grupos de 1 a 10 e mantidos a 37°C, ao abrigo da luz. Passados 14 dias, os corpos-de-prova foram removidos do agente antifúngico e lavados com 15 mL de água destilada e secados com lenços de papel macio. Os

corpos-de-prova foram inseridos em novos tubos plásticos do tipo Falcon contendo 25 mL de água destilada onde permaneceram a 37° C protegidos contra luz por 03 dias. Após este período os corpos-de-prova foram novamente lavados, secados e imersos em novos tubos plásticos onde permaneceram armazenados a 37° C por mais 04 dias totalizando 7 dias de imersão. Este procedimento foi repetido mais duas vezes para as amostras dos períodos de 10 e 14 dias. Após o 14º dia de imersão os corpos foram removidos e descartados. Após cada troca os tubos contendo as soluções de armazenagem foram armazenados sob refrigeração constante de 8°C e ao abrigo de luz. A seguir, 2,0 mL das amostras das soluções de água destilada dos períodos de 3, 7, 10 e 14 dias foram filtradas em filtro de membrana (membrana Millex LCR PTFE 0,45 µm, 13 mm não estéril, Millipore Ind. e Com. LTDA, São Paulo, São Paulo, Brasil) e acondicionados em vials (Vial claro Agilent 12X32 2mL para lacre 11 mm, Agilent, São Paulo, São Paulo Brasil) para análise através de cromatografia líquida de alta performance (CLAE).



Fig. 9. Aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Performance utilizado no ensaio incorporação dos agentes antifúngicos em resina acrílica.

4.8.1 Análise das Soluções de Armazenagem

4.8.1.1 Amostras expostas ao gel orobase

As análises por CLAE em fase reversa das soluções de armazenagem de gel orobase manipulados com e sem princípio ativo foram feitas de acordo com o método modificado de Koo *et al.*, (2000b). Vinte microlitros de cada extrato foram injetados em um cromatógrafo líquido (figura 9) acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos a 254 nm e uma coluna de fase reversa YMC PACK ODS (250 x 4,6 mm) com tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel utilizada foi água/ácido acético (19:1, v/v) (solvente A) e metanol (solvente B), com vazão constante de 1 mL/min. O gradiente iniciou com 30% do solvente B até 40% de B em 15 minutos, 50% de B em 30 minutos, 60% de B em 45 minutos, 75% de B em 65 minutos, 75% de B em 85 minutos, 90% de B em 95 minutos e 30% de B em 105 minutos. A coluna foi mantida a temperatura constante de 35°C e os cromatogramas foram processados utilizando “software” específico.

4.8.1.2 Amostras expostas ao Fluconazol e Nistatina

As amostras provenientes da armazenagem dos espécimes expostos ao fluconazol e nistatina e o grupo controle de água destilada foram misturadas a 500 µL de água destilada, 50 µL do padrão de fluconazol ou nistatina dissolvidos em 10 mL 10:90 metanol/água e 250 µL de hidróxido de amônio a 1 molar. Após agitação, o fluconazol ou nistatina foi extraído em 5 mL de acetato de etila por agitação durante 30 segundos e centrifugado para separação das camadas. Após a centrifugação, o fluconazol ou nistatina foram re-extraídos pela adição de 1,5 mL de 6 mol hidróxido de amônio e 5,0 mL de etil acetato e centrifugação do tubo. O etil acetato foi transferido para um tubo limpo e evaporado a 40°C sobre corrente de gás nitrogênio. O resíduo foi dissolvido em 200 µL de solvente para coluna (50:50 metanol;0,01 M pH 7,0 de tampão fosfato), que foi filtrado através de membrana filtrante (0,2 µm) seguido de injeção de 30 µL

em uma coluna 4,6 x 25 cm. Com uma pré-coluna C18 e filtro de alta pressão a solução foi injetada com eluição de 1 mL/minuto e a detecção foi realizada a 260 nm. (Foulds *et al.*, 1988; Ostrosky-Zeichner *et al.*, 2001)

4.9 Microscopia Eletrônica de Varredura

Três corpos-de-prova para cada resina foram utilizados para análise no período inicial. Após os 14 dias de tratamento os espécimes foram lavados com água destilada e secos com lenço de papel absorvente. Quatro blocos com 25 mm² de área para análise foram cortados da região central de cada corpo de prova e os mesmos foram fixados em “stubs” de aço inox com fita de carbono (Carbon Tape, 3M) e levados ao metalizador (MED 010, Balzers) onde uma camada áurea de 100 Å foi depositada sobre sua superfície.

4.9.1 Análise dos Espécimes

O “stub” com os espécimes foi levado ao microscópio eletrônico de varredura (DSM 900, ZEISS). Micrografias eletrônicas foram produzidas com 05 kV de aceleração de elétrons e analisadas qualitativamente por um único operador.

4.10 Análise Estatística

Os resultados obtidos para os ensaios de rugosidade superficial, ângulo de contato, energia livre de superfície, dureza superficial e cromatografia líquida foram submetidos à análise estatística com software SAS versão 9.0 (SAS Institute Inc. Carolina do Norte, Estados Unidos). Os dados foram submetidos ao teste F seguido de teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%.

No ensaio de cromatografia líquida não houve liberação para os compostos de fluconazol e nistatina, dessa forma a análise limitou-se a comparação entre as médias obtidas para os grupos de gel orobase com e sem princípio ativo.

5 Resultados

Na análise estatística pelo teste F não houve diferenças entre as duas resinas, polimerizada em banho de água ou por energia de microondas. Entretanto, no mesmo teste foi verificado que havia diferença para os fatores tempos e agentes e para detecção das diferenças foi utilizado o teste de Tukey.

Tabela 4. Médias e desvios-padrão de rugosidade superficial (μm) para resina acrílica polimerizada em banho de água. (n=8)

Tratamentos	Períodos (dias)									
	T0		T3		T7		T10		T14	
G1	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,09 $\pm$ 0,01	A, ab	0,10 $\pm$ 0,01	AB, ab	0,11 $\pm$ 0,02	AB, ab	0,14 $\pm$ 0,02	AB, c
G2	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,10 $\pm$ 0,02	A, b	0,13 $\pm$ 0,01	B, c	0,14 $\pm$ 0,01	B, c	0,16 $\pm$ 0,03	B, d
G3	0,09 $\pm$ 0,02	A, a	0,07 $\pm$ 0,02	A, a	0,09 $\pm$ 0,02	A, a	0,09 $\pm$ 0,02	A, a	0,12 $\pm$ 0,02	AB, b
G4	0,08 $\pm$ 0,02	A, ab	0,07 $\pm$ 0,01	A, a	0,07 $\pm$ 0,01	A, a	0,08 $\pm$ 0,01	A, a	0,11 $\pm$ 0,01	A, b
G5	0,08 $\pm$ 0,01	A, ab	0,07 $\pm$ 0,01	A, a	0,09 $\pm$ 0,01	A, ab	0,09 $\pm$ 0,01	A, ab	0,11 $\pm$ 0,01	A, b

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical ($p < 0,05$).

Tabela 5. Médias de rugosidade superficial e desvios padrão (μm) para resina acrílica polimerizada com energia de microondas. (n=8)

Tratamentos	Períodos (dias)									
	T0		T3		T7		T10		T14	
G6	0,09 $\pm$ 0,02	A, a	0,09 $\pm$ 0,02	A, a	0,10 $\pm$ 0,02	AB, a	0,12 $\pm$ 0,03	A, a	0,14 $\pm$ 0,03	AB, b
G7	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,10 $\pm$ 0,02	A, b	0,13 $\pm$ 0,01	B, c	0,16 $\pm$ 0,02	B, d	0,16 $\pm$ 0,02	B, d
G8	0,08 $\pm$ 0,03	A, ab	0,07 $\pm$ 0,02	A, a	0,10 $\pm$ 0,01	AB, bc	0,10 $\pm$ 0,02	A, ab	0,12 $\pm$ 0,02	A, c
G9	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,07 $\pm$ 0,02	A, a	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,10 $\pm$ 0,01	A, a
G10	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,07 $\pm$ 0,02	A, a	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,08 $\pm$ 0,02	A, a	0,12 $\pm$ 0,02	A, b

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical ($p < 0,05$).

Ao se analisar as tabelas 4 e 5, os resultados para a rugosidade superficial mostram que G1, G3, G4, G5, G6, G8 e G10 aos 14 dias apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey, quando comparados ao T0. Também G2 e G7 apresentaram maior rugosidade superficial e diferente estatisticamente ($p < 0,05$) entre todos os tempos estudados. Entretanto, a rugosidade superficial para G9 foi estável em todos os tempos estudados. Na análise entre os agentes antifúngicos, verifica-se que apenas G2 e G7 diferiram dos demais grupos, sendo que essas diferenças foram estatisticamente significantes ($p < 0,05$) a partir de sete dias de imersão dos espécimes no Gel Orobase contendo própolis. As figuras 10 A e B ilustram esses resultados.

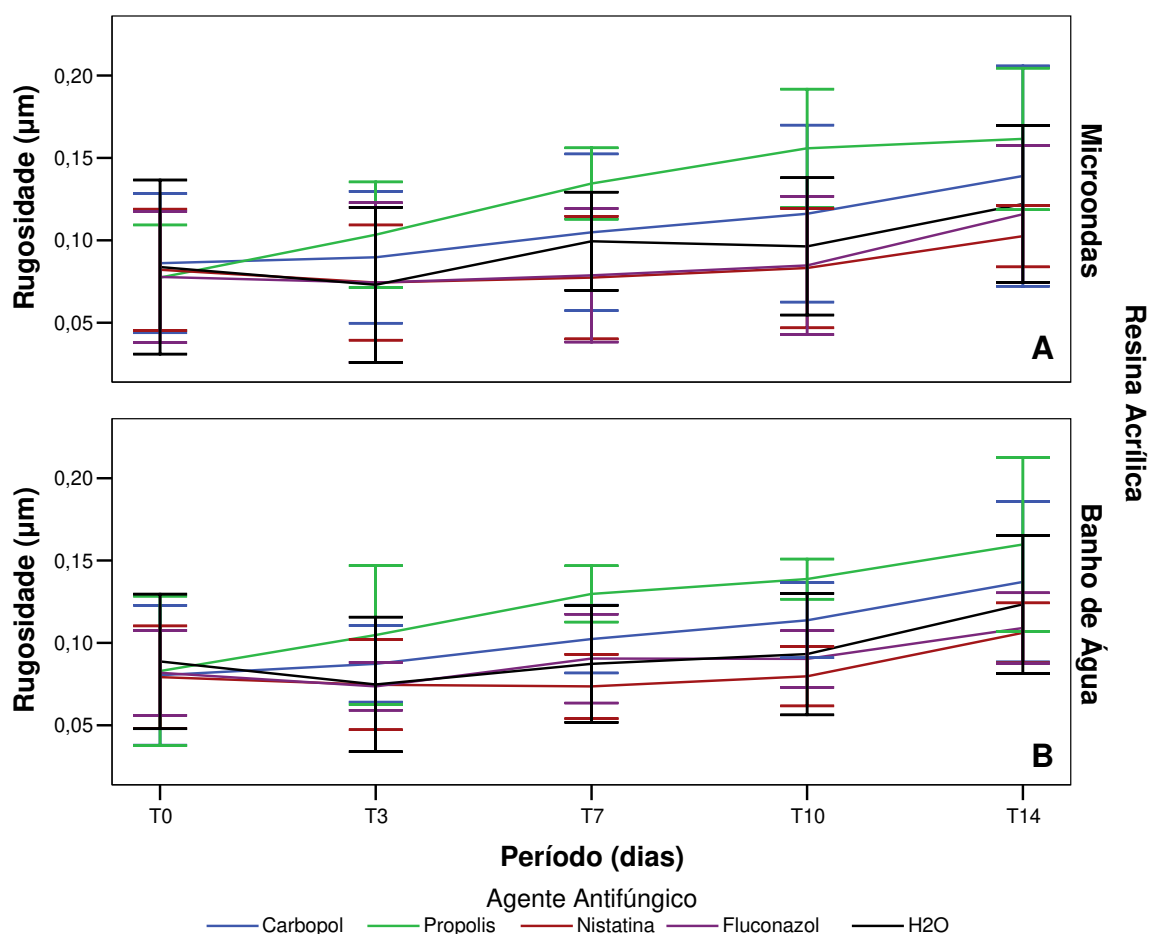


Fig. 10. A e B. Valores de rugosidade superficial (µm) e desvios padrão para as resinas acrílicas avaliadas nos períodos de análises.

As tabelas 6 e 7 apresentam os resultados obtidos das mensurações dos ângulos de contato para ambas as resinas.

Tabela 6. Médias e desvios padrão de ângulo de contato (grau) para a resina acrílica polymerizada em banho de água (n=8)

Tratamentos		Períodos (dias)									
		T0		T3		T7		T10		T14	
G1	64,3 ± 5,3	A, ab		60,9 ± 7,7	A, ab	67,0 ± 4,2	A, a	56,5 ± 4,7	A, b	61,8 ± 4,1	A, ab
G2	66,2 ± 4,1	A, a		60,9 ± 6,2	A, a	60,6 ± 5,8	A, a	61,5 ± 3,1	A, a	63,7 ± 4,0	A, a
G3	65,5 ± 2,6	A, a		63,6 ± 5,8	A, a	60,5 ± 5,0	A, a	59,7 ± 6,0	A, a	58,2 ± 3,5	A, a
G4	65,4 ± 6,2	A, a		63,6 ± 6,6	A, a	62,1 ± 4,7	A, a	60,6 ± 4,6	A, a	57,2 ± 4,9	A, a
G5	65,2 ± 5,1	A, a		61,9 ± 5,5	A, a	60,7 ± 6,9	A, a	62,8 ± 5,6	A, a	59,7 ± 2,4	A, a

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical (p<0,05).

Tabela 7. Médias e desvios padrão de ângulo de contato (grau) a resina acrílica polymerizada com energia de microondas. (n=8)

Tratamentos		Períodos (dias)									
		T0		T3		T7		T10		T14	
G6	64,8 ± 3,9	A, a		64,8 ± 6,0	A, a	65,5 ± 3,8	A, a	63,8 ± 3,8	A, a	59,3 ± 5,5	A, a
G7	60,0 ± 6,4	A, a		62,1 ± 5,5	A, a	61,0 ± 4,5	A, a	59,1 ± 2,6	A, a	59,2 ± 4,3	A, a
G8	64,0 ± 4,2	A, a		63,7 ± 8,0	A, a	63,0 ± 6,6	A, a	61,1 ± 5,7	A, a	61,0 ± 5,6	A, a
G9	62,7 ± 5,1	A, a		61,2 ± 6,3	A, a	62,3 ± 6,4	A, a	62,3 ± 4,2	A, a	58,5 ± 5,8	A, a
G10	62,0 ± 4,5	A, a		62,5 ± 5,5	A, a	57,4 ± 2,4	A, a	60,2 ± 2,9	A, a	61,9 ± 2,9	A, a

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical (p<0,05).

De acordo com a análise das médias dos ângulos de contato (teste de Tukey, p>0,05), nenhuma diferença estatística foi detectada para os períodos analisados. Em que pese nessa análise não ter sido constatado diferenças

estatísticas significantes observa-se que houve diminuição nos valores dos ângulos de contato. As figuras 11 A e B ilustram os resultados.

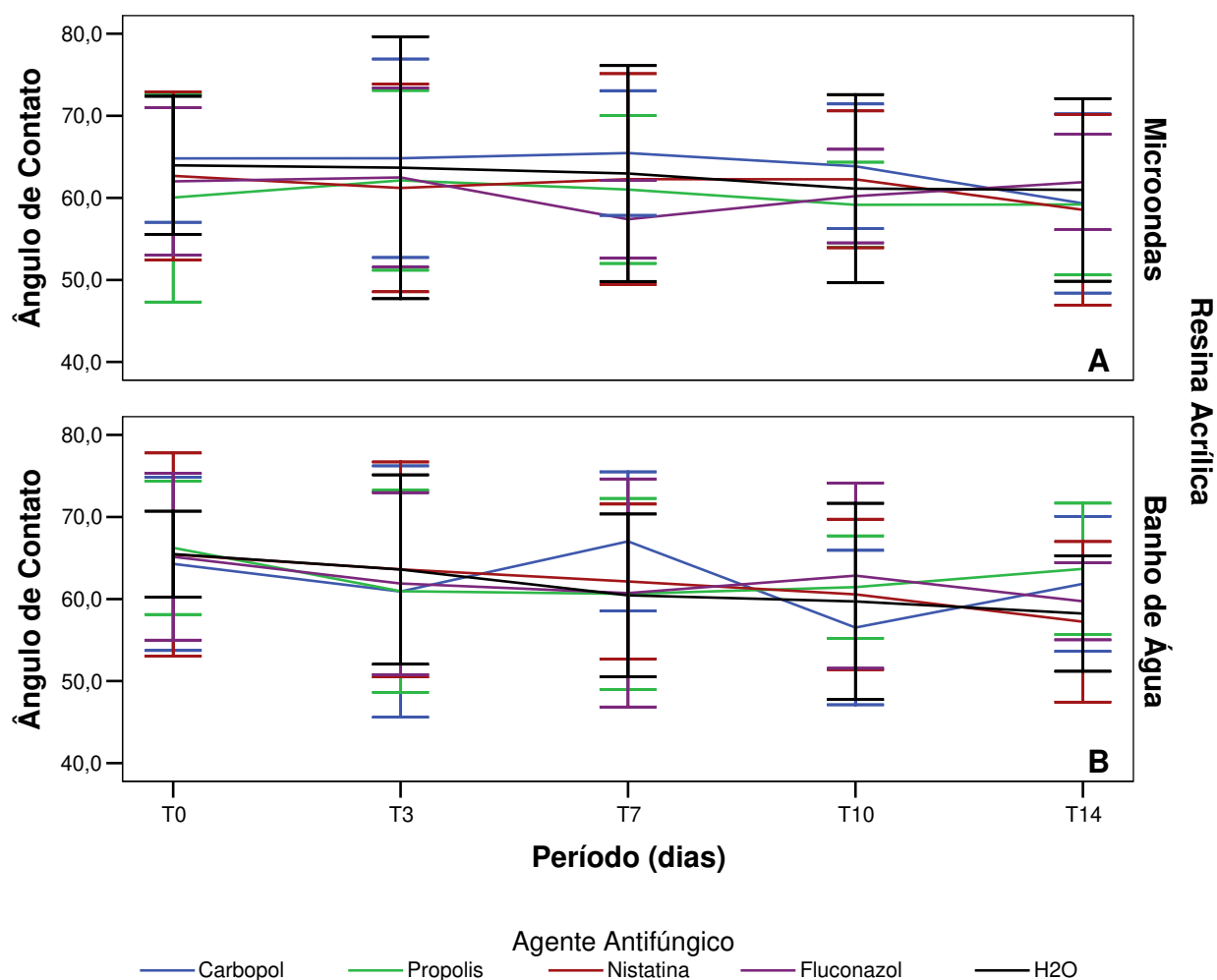


Fig. 11 A e B. Valores de ângulos (grau) de contato e desvios padrão para as resinas acrílicas avaliadas nos períodos de análises.

A energia livre de superfície foi obtida pela conversão não linear dos valores encontrados na mensuração dos ângulos de contato e, assim diferentes comportamento dos materiais, agentes antifúngicos e períodos de análise poderiam ser esperados. Contudo, assim como na variável de ângulo de contato,

não foi encontrada diferença estatística significativa entre as duas resinas acrílicas avaliadas (teste de Tukey, $p>0,05$).

Tabela 8. Médias e desvios padrão para a energia livre de superfície (erg cm^{-2}) da resina acrílica polymerizada em banho de água. (n=8)

Tratamentos	Períodos (dias)									
	T0		T3		T7		T10		T14	
G1	44,01 ± 3,34	A, a	46,12 ± 4,82	A, a	42,28 ± 2,69	A, a	47,69 ± 2,91	A, a	45,56 ± 2,59	A, a
G2	42,78 ± 2,58	A, a	45,00 ± 2,82	A, a	46,31 ± 3,67	A, a	45,81 ± 1,97	A, a	44,40 ± 2,53	A, a
G3	43,28 ± 1,66	A, a	44,45 ± 3,65	A, a	46,42 ± 3,12	A, a	46,89 ± 3,73	A, a	47,82 ± 2,19	A, a
G4	43,30 ± 3,92	A, a	44,44 ± 4,14	A, a	45,37 ± 2,96	A, a	46,35 ± 2,87	A, a	48,44 ± 3,05	A, a
G5	43,46 ± 3,20	A, a	45,53 ± 3,50	A, a	44,85 ± 3,19	A, a	44,92 ± 3,54	A, a	46,89 ± 1,47	A, a

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical ($p<0,05$).

Tabela 9. Médias e desvios padrão de energia livre de superfície (erg cm^{-2}) para resina acrílica polymerizada com energia de microondas. (n=8)

Tratamentos	Períodos (dias)									
	T0		T3		T7		T10		T14	
G6	43,70 ± 2,46	A, a	43,67 ± 3,82	A, a	43,28 ± 2,40	A, a	44,30 ± 2,40	A, a	45,93 ± 2,60	A, a
G7	46,68 ± 4,01	A, a	45,37 ± 3,44	A, a	46,09 ± 2,84	A, a	47,26 ± 1,62	A, a	47,23 ± 2,68	A, a
G8	44,23 ± 2,65	A, a	44,38 ± 5,04	A, a	44,84 ± 4,14	A, a	46,00 ± 3,60	A, a	46,10 ± 3,47	A, a
G9	45,03 ± 3,22	A, a	45,94 ± 3,97	A, a	45,27 ± 4,06	A, a	45,30 ± 2,62	A, a	47,61 ± 3,63	A, a
G10	45,45 ± 2,82	A, a	45,15 ± 3,43	A, a	48,36 ± 1,48	A, a	46,59 ± 1,79	A, a	45,52 ± 1,83	A, a

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical ($p<0,05$).

Os valores médios de energia livre de superfície são ilustrados nas figuras 12 A e B.

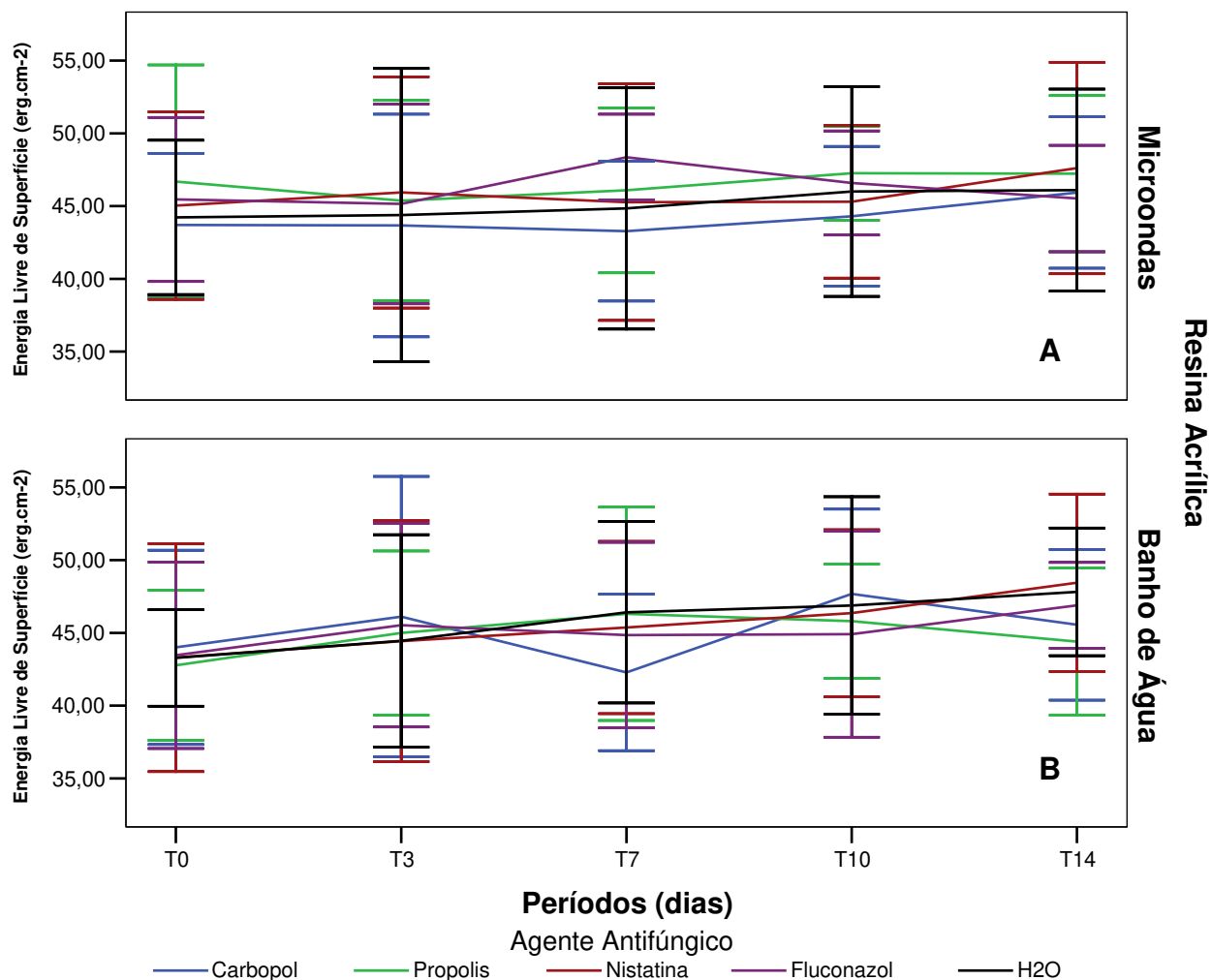


Fig. 12 A e B. Valores de energia livre de superfície (erg.cm⁻²) e desvios padrão para as resinas acrílicas avaliadas nos períodos de análises.

As tabelas 10 e 11 apresentam os resultados de dureza superficial e análise estatística.

Tabela 10. Médias e desvios-padrão de dureza superficial (Kg/mm²) para resina acrílica polymerizada em banho de água (n=8)

Tratamentos	Períodos(dias)									
	T0		T3		T7		T10		T14	
G1	18,4 ± 0,6	A, a	18,3 ± 0,4	A, a	18,1 ± 0,5	A, a	18,2 ± 0,3	A, a	18,3 ± 0,3	AB, a
G2	18,6 ± 0,6	A, a	19,0 ± 0,7	A, a	19,0 ± 0,4	AB, a	18,6 ± 0,5	A, a	19,0 ± 0,3	A, a
G3	18,9 ± 0,7	A, a	18,2 ± 0,4	A, ab	17,7 ± 0,4	B, b	17,9 ± 0,3	A, b	18,2 ± 0,2	B, ab
G4	18,2 ± 0,4	A, a	17,9 ± 0,3	A, a	18,0 ± 0,2	AB, a	17,9 ± 0,4	A, a	18,1 ± 0,3	B, a
G5	18,4 ± 0,4	A, a	18,0 ± 0,3	A, a	18,0 ± 0,3	B, a	18,1 ± 0,3	A, a	18,2 ± 0,3	B, a

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical (p<0,05).

Tabela 11. Médias e desvios-padrão de dureza superficial (Kg/mm²) para resina acrílica polymerizada com energia de microondas. (n=8)

Tratamentos	Períodos (dias)									
	T0		T3		T7		T10		T14	
G6	18,6 ± 0,4	A, a	18,8 ± 0,4	A, a	18,1 ± 0,4	A, a	18,2 ± 0,4	B, a	18,1 ± 0,3	B, a
G7	18,6 ± 0,4	A, a	18,6 ± 1,5	A, ab	19,0 ± 0,5	A, ab	19,2 ± 0,4	A, ab	19,5 ± 0,4	A, b
G8	18,9 ± 0,6	A, a	18,6 ± 0,7	A, a	18,5 ± 0,5	A, a	18,4 ± 0,5	AB, a	18,6 ± 0,3	B, a
G9	18,7 ± 0,5	A, a	18,6 ± 0,3	A, a	18,7 ± 0,6	A, a	18,4 ± 0,5	AB, a	18,8 ± 0,4	AB, a
G10	18,8 ± 0,6	A, a	18,3 ± 0,6	A, a	18,6 ± 0,4	A, a	18,5 ± 0,2	AB, a	18,7 ± 0,5	B, a

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical (p<0,05).

Ao analisar as tabelas, observa-se que para a resina polimerizada em banho de água somente o G3, cujos espécimes estavam imersos em água deionizada, ou seja, grupo controle para G4 e G5 (Nistatina e Fluconazol, respectivamente) apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) para os tempos de imersão de T7 e T10 dias, diminuindo sua dureza superficial quando comparado aos tempos T0, T3 e T14 dias. Entretanto, para a resina polimerizada em energia de microondas, apenas o G7 grupo em que os espécimes foram tratados com o gel orobase contendo própolis, no tempo de 14 dias (T14) diferiu significativamente de T0, ($p < 0,05$, Teste de Tukey), tempo este que a dureza superficial foi maior comparado ao valor inicial.

Quando se avalia a influência dos agentes antifúngicos sobre a dureza superficial das resinas, observa-se que os Grupos 2 e G7 no tempo de 14 dias (T14), cujos espécimes foram tratados com o Gel em orobase contendo própolis teve sua dureza superficial aumentada, diferindo significativamente ($p < 0,05$, teste Tukey) dos G6, G7 e G10. Em acréscimo, para a resina polimerizada com energia de microondas, o mesmo G7 também no tempo de 10 dias (T10) diferiu significativamente do grupo G6. Nas figuras 13 A e B é possível verificar este comportamento.

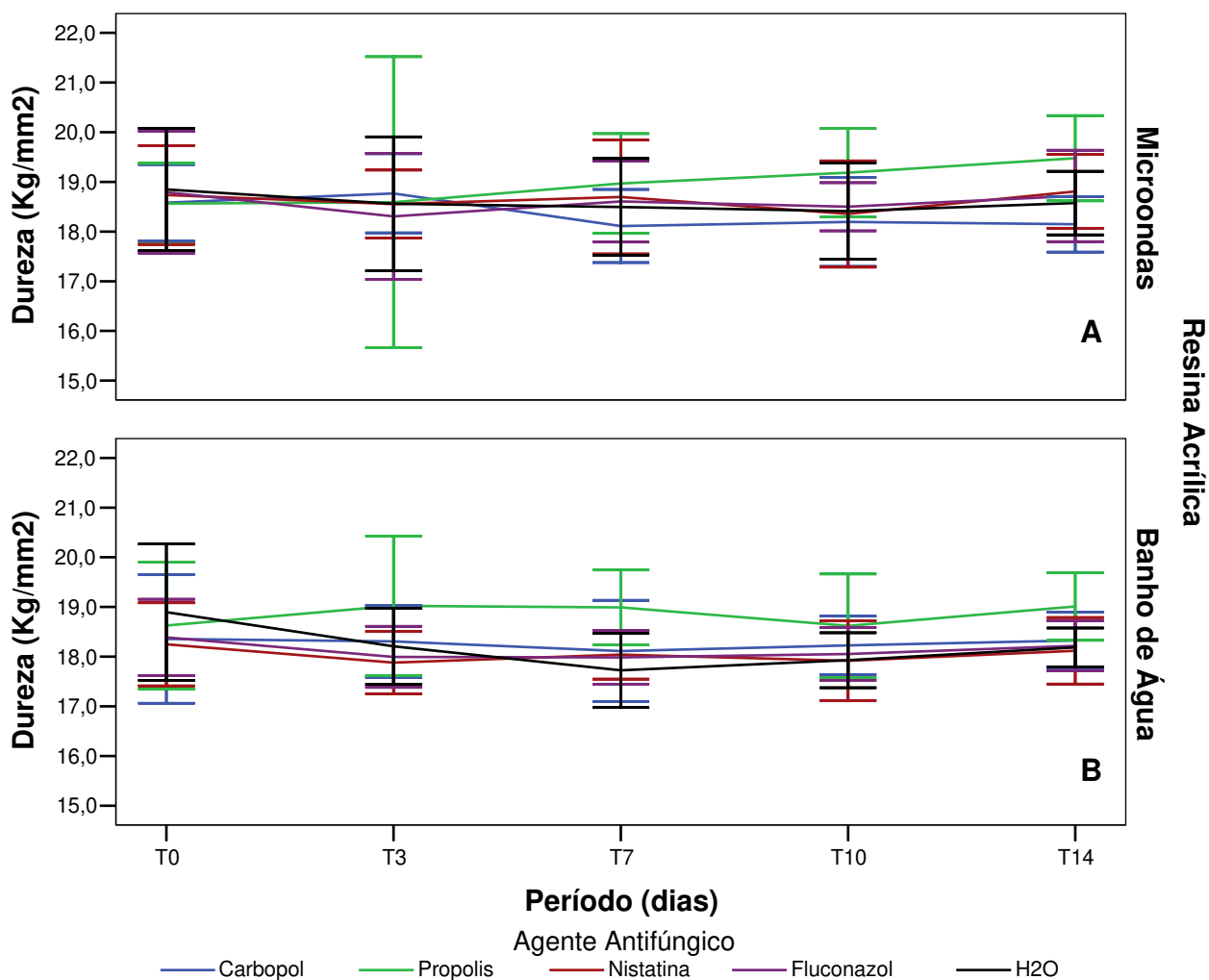


Fig. 13 A e B. Valores de dureza (Kg/mm²) e desvios padrão para as resinas acrílicas avaliadas nos períodos de análises.

Através das médias obtidas, foram realizadas as correlações entre as variáveis pelo método proposto por Pearson. Os resultados obtidos por esta análise podem ser verificados na tabela 12. Segundo esta tabela é possível verificar a relação negativa entre as variáveis rugosidade e angulação. Uma correlação positiva entre a rugosidade superficial e a dureza pode ser verificada.

Tabela 12. Correlações de Pearson para as variáveis avaliadas.

	RUGOSIDADE	DUREZA	ANGULAÇÃO	ENERGIA
RUGOSIDADE	1,00000			
DUREZA	0,22681 ($< 0,0001$)	1,00000		
ANGULAÇÃO	-0,10714 (0,0322)	-0,05045 (0,3141)	1,00000	
ENERGIA	-0,00642 (0,8981)	0,12345 (0,0135)	-0,20661 ($< 0,0001$)	1,0000

Na análise cromatográfica dos meios de imersão das amostras de resinas expostas ao Fluconazol e Nistatina, verificou-se que não houve liberação destes dois agentes antifúngicos em nenhum dos períodos de análise para ambas as concentrações utilizadas (fig. 14-16).

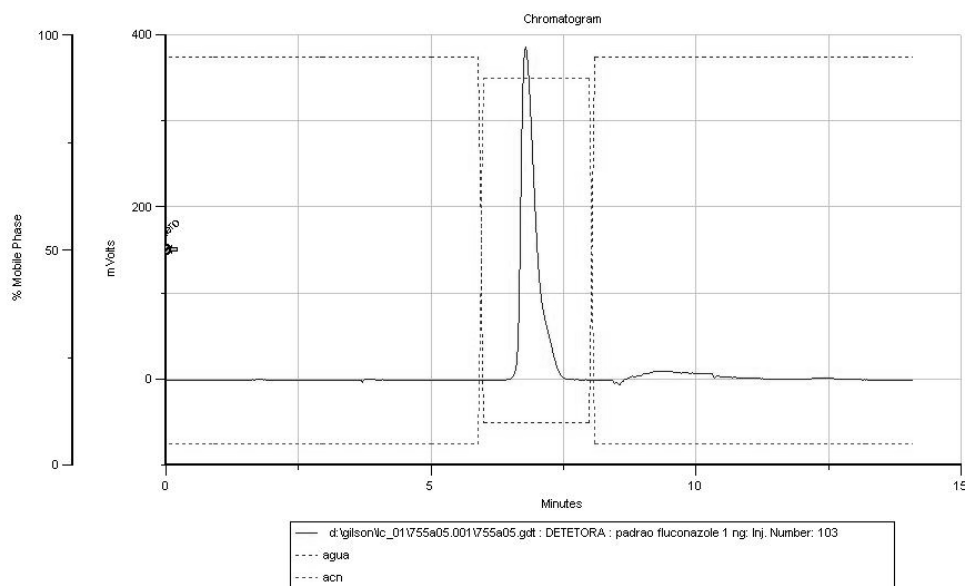


Fig. 14. Cromatograma do padrão de fluconazol.

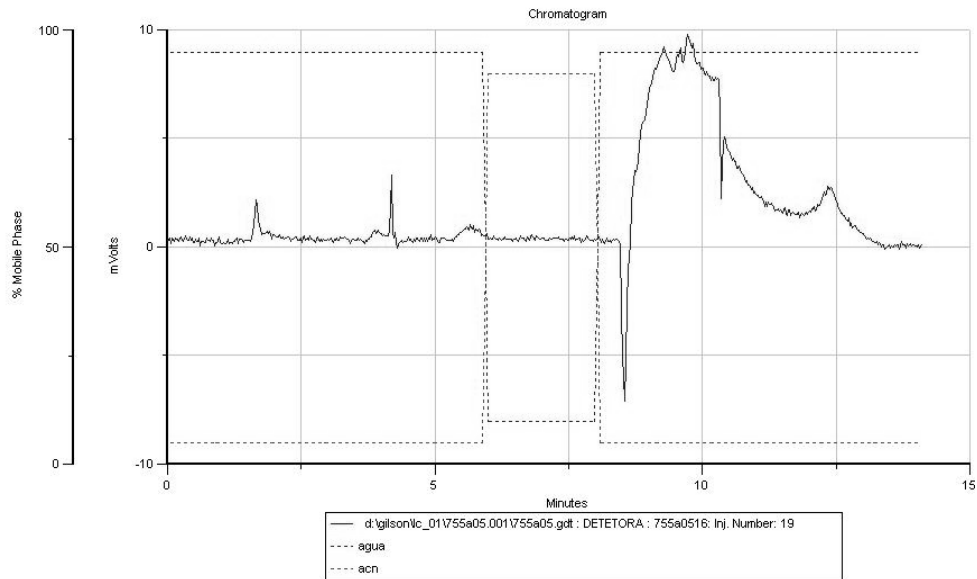


Fig. 15. Cromatograma da solução de armazenagem de 03 dias de fluconazol na concentração de 256 µg/mL, para resina acrílica polimerizada em banho de água.

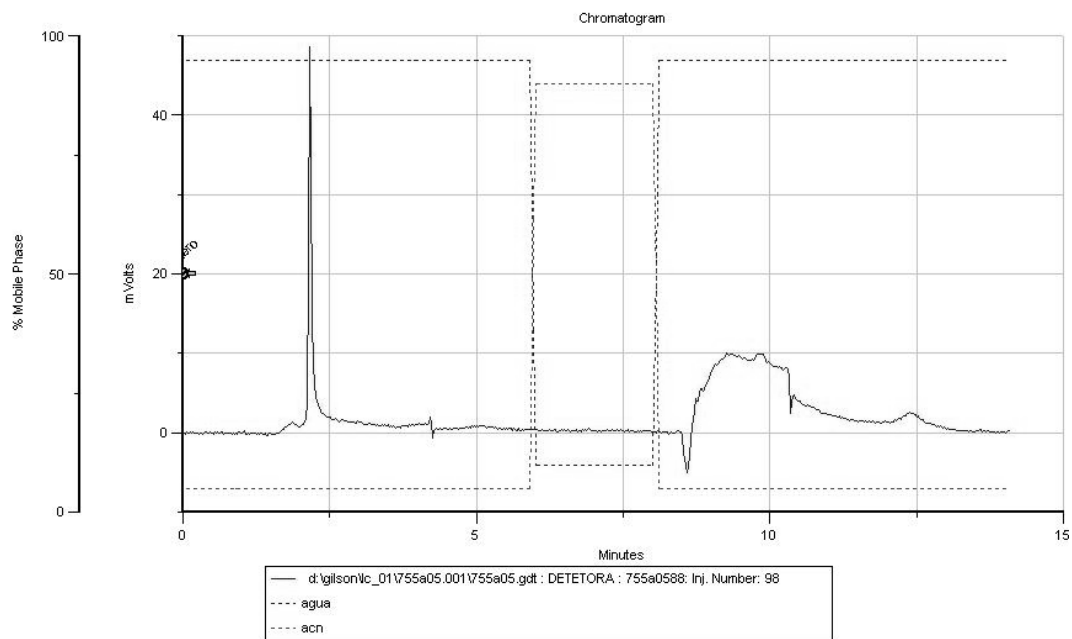


Fig. 16. Cromatograma da solução controle (água destilada) de armazenagem de 03 dias para resina acrílica polimerizada em banho de água.

Entretanto, quando se analisou pela cromatografia os compostos liberados pelos agentes antifúngicos manipulados com gel orobase, verificou-se haver diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$) entre os períodos analisados. Contudo não foi verificada diferença para as resinas acrílicas ou entre os géis ($p > 0,05$). As tabelas 13 e 14 apresentam os valores obtidos a partir dos cromatogramas (fig. 17 -20) para as resinas expostas a estes agentes.

Tabela 13. Médias e desvios-padrão de compostos liberados (UA) para resina acrílica polimerizada em banho de água.

Tratamentos	Períodos(dias)			
	T3	T7	T10	T14
G1	2835,26 Aa	1725,54 Ab	1840,22 Ab	2033,93 Ab
G2	3580,26 $\pm$ 226,75 Aa	2090,46 $\pm$ 83,81 Ab	1429,07 $\pm$ 310,49 Ab	1200,97 $\pm$ 498,92 Ab

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical ($p < 0,05$).

Tabela 14. Médias e desvios-padrão dos compostos liberados (UA) para resina acrílica polimerizada com energia de microondas

Tratamentos	Períodos(dias)			
	T3	T7	T10	T14
G6	2872,59 Aa	1887,15 Ab	1722,79 Ab	1259,45 Ab
G7	2976,09 $\pm$ 1012,55 Aa	2061,76 $\pm$ 62,99 Ab	1746,44 $\pm$ 84,45 Ab	1633,17 $\pm$ 435,73 Ab

Médias seguidas de letras minúsculas mostram diferenças estatística no sentido horizontal, letras maiúsculas no sentido vertical ($p < 0,05$).

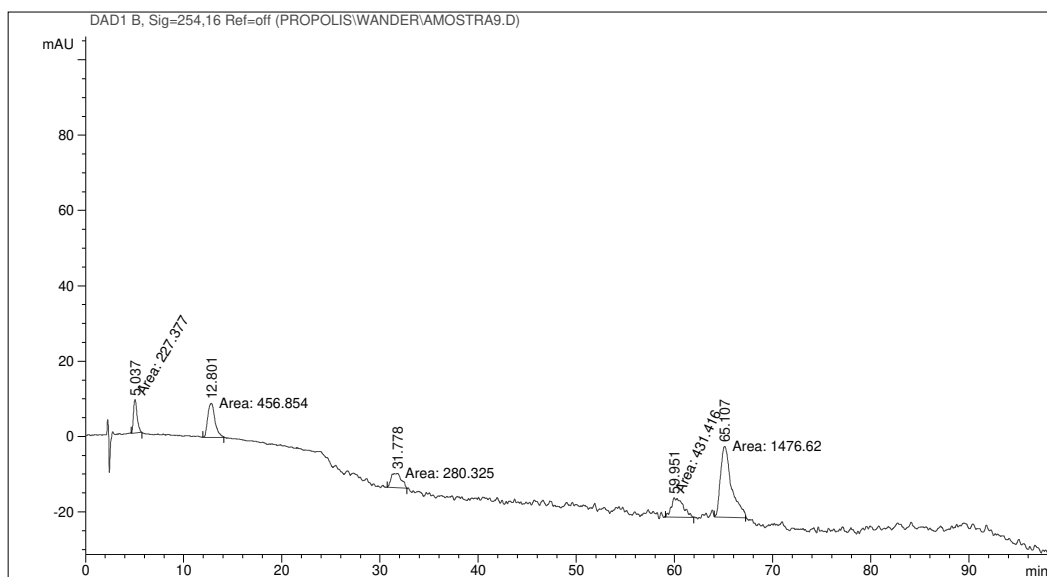


Fig. 17. Cromatografia de amostra representativa da solução de armazenamento de 03 dias para resina acrílica polimerizada com energia de microondas exposta ao gel orobase sem princípio ativo.

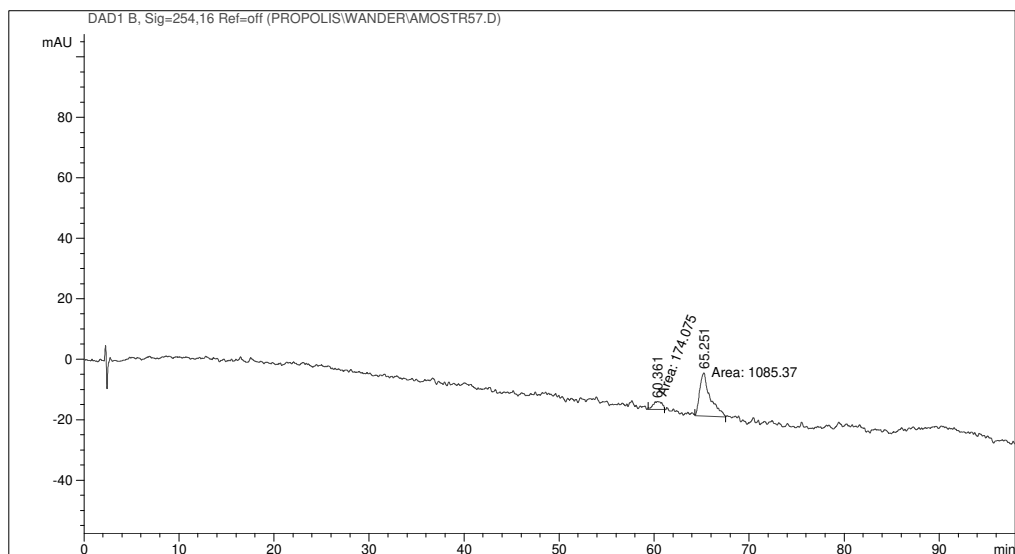


Fig. 18. Cromatografia de amostra representativa da solução de armazenamento de 14 dias para resina acrílica polimerizada com energia de microondas exposta ao gel orobase sem princípio ativo.

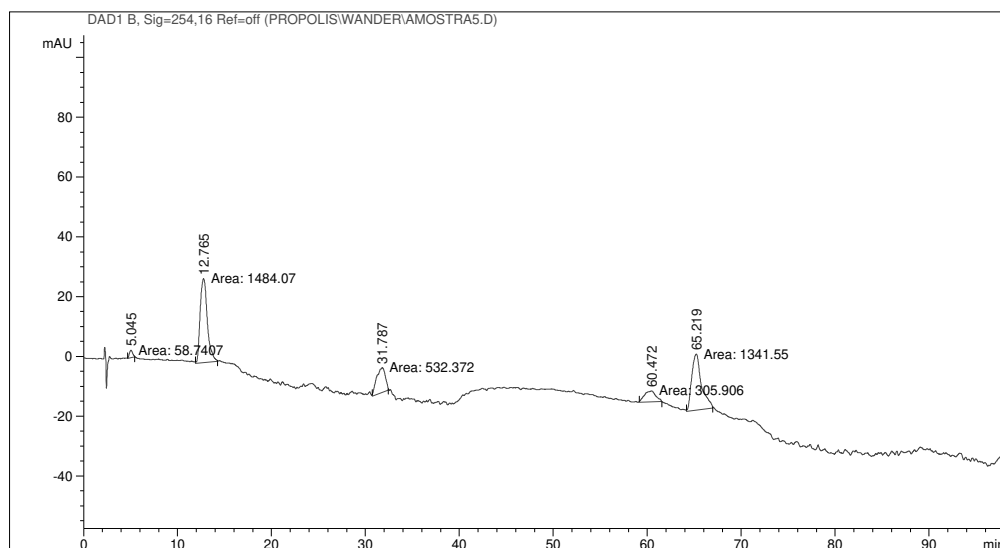


Fig. 19 Cromatografia de amostra representativa da solução de armazenamento de 03 dias para resina acrílica polimerizada em banho de água exposta ao gel orobase com princípio ativo.

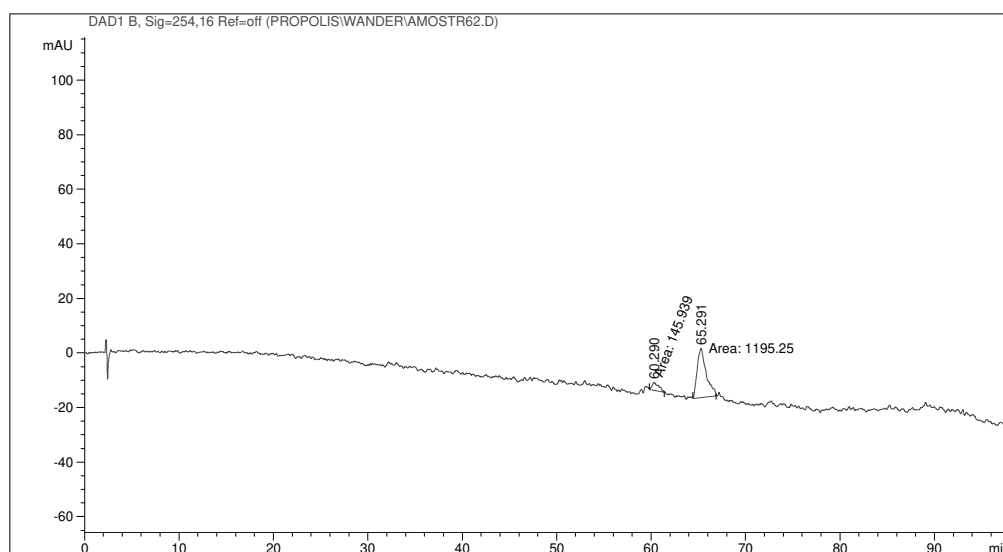


Fig. 20. Cromatografia de amostra representativa da solução de armazenamento de 14 dias para resina acrílica polimerizada em banho de água exposta ao gel orobase com princípio ativo.

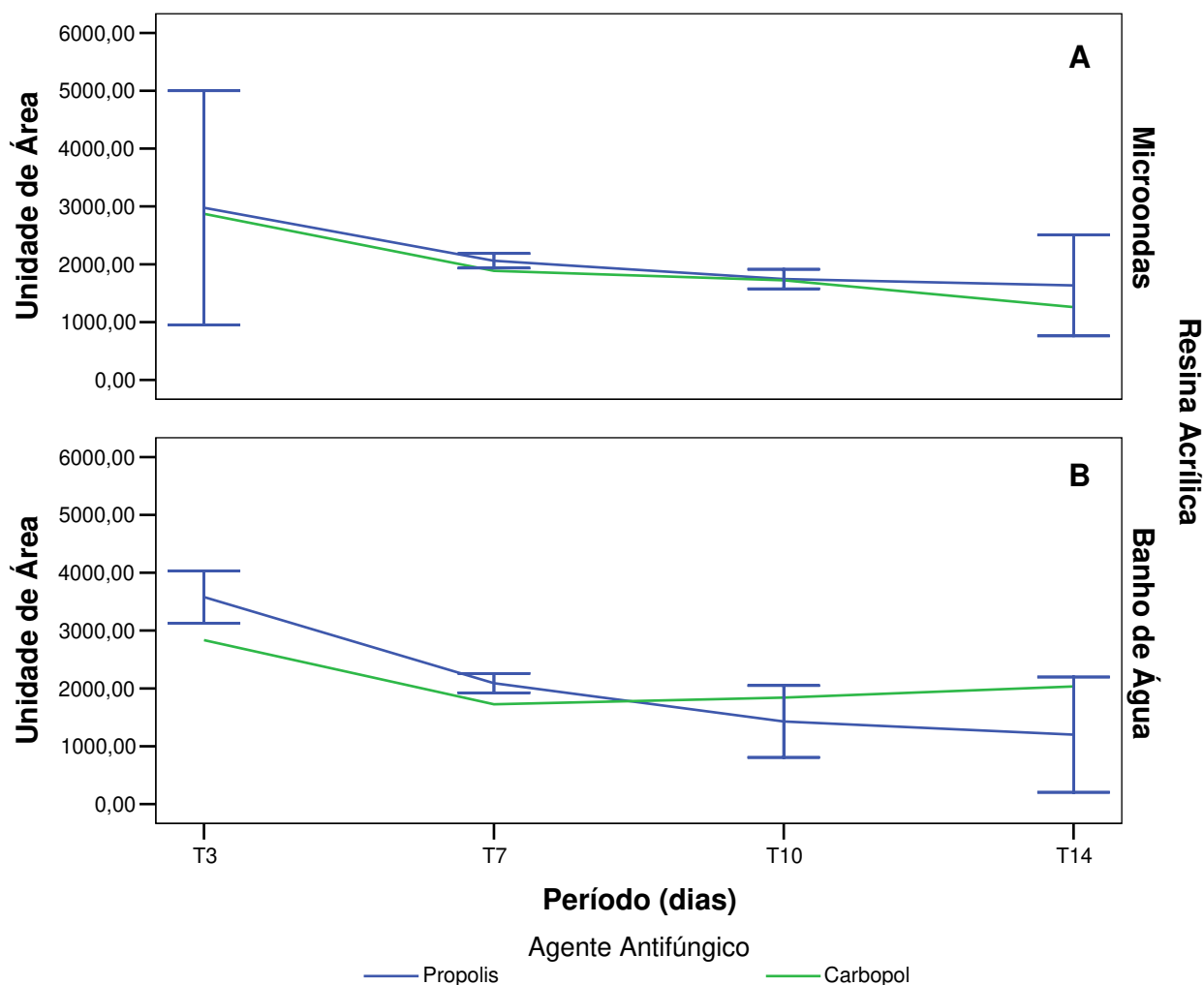


Fig. 21 A e B. Componentes liberados (UA) e desvios padrão para as resinas acrílicas avaliadas nos períodos de análises.

O exame da superfície através da microscopia eletrônica de varredura possibilitou o entendimento das modificações nas demais variáveis. Nas fotos micrografias obtidas a partir dos corpos-de-prova dos grupos G2 e G7 (fig. 24 - 27), verifica-se a deposição de própolis sobre a superfície da resina acrílica. Comportamento similar é verificado nas fotos micrografias obtidas a partir dos corpos-de-prova dos grupos G1 e G6 (fig. 28 - 29), onde se verifica a deposição dos compostos presentes no gel orobase. As fotos micrografias obtidas a partir dos corpos-de-prova expostos em água destilada, fluconazol e nistatina podem ser observados nas fig. 30 a 35.

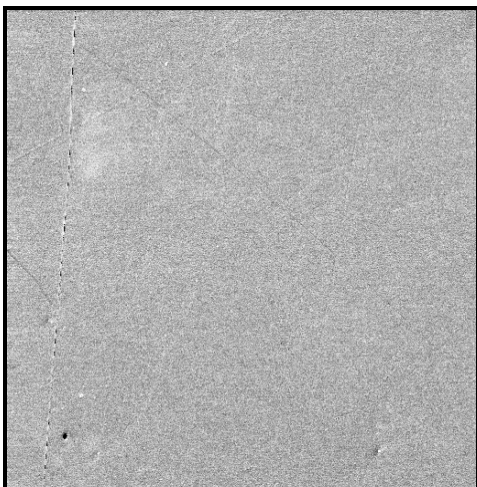


Fig. 22. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada por energia de microondas após polimento de superfície ($R_a=0,05 \mu\text{m}$), em aumento de 500x.

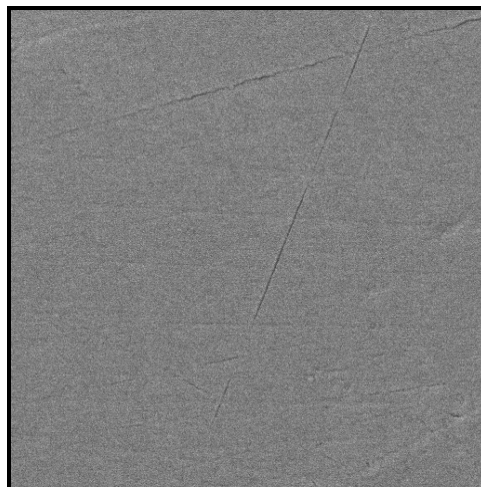


Fig. 23. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após polimento de superfície ($R_a=0,09 \mu\text{m}$), em aumento de 3000x.

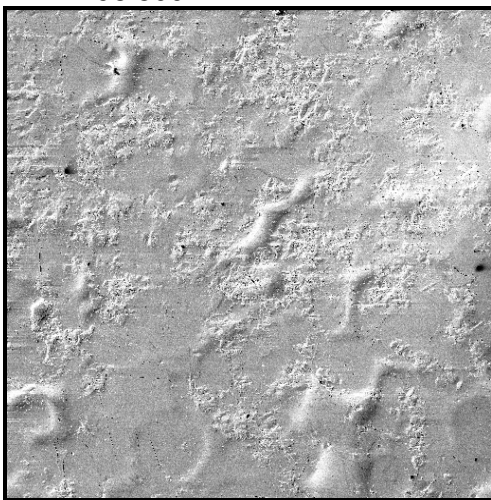


Fig. 24. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com gel orobase de EEP ($R_a=0,16 \mu\text{m}$), em aumento de 200x.

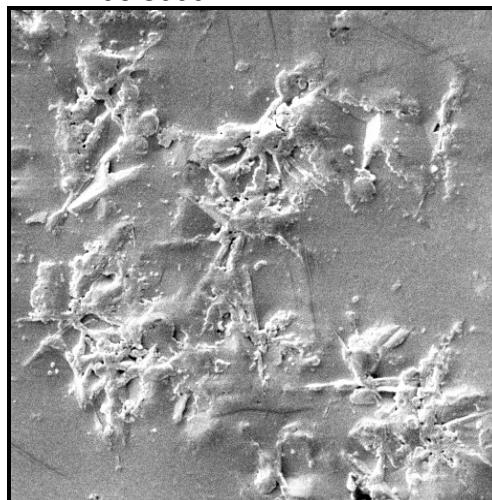


Fig. 25. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com gel orobase de EEP ($R_a=0,16 \mu\text{m}$), em aumento de 1500x.

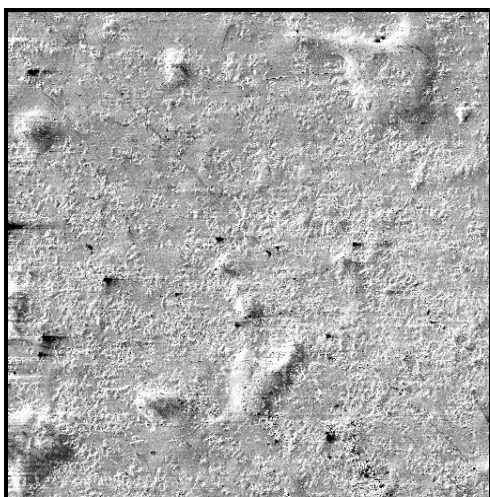


Fig. 26. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada por energia de microondas após tratamento de superfície de 14 dias com gel orobase de EEP ($R_a=0,16 \mu\text{m}$), em aumento de 200x.

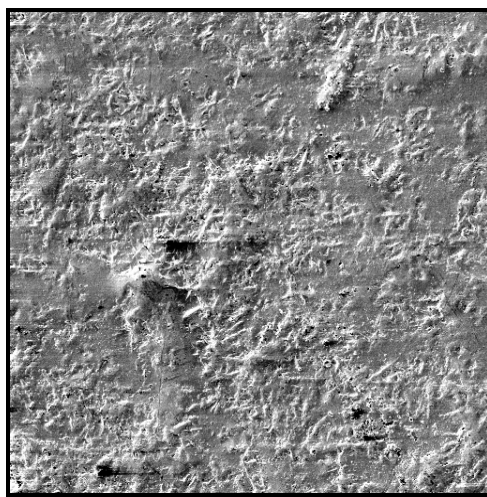


Fig. 27. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada por energia de microondas após tratamento de superfície de 14 dias com gel orobase de EEP ($R_a=0,16 \mu\text{m}$), em aumento de 1000x.

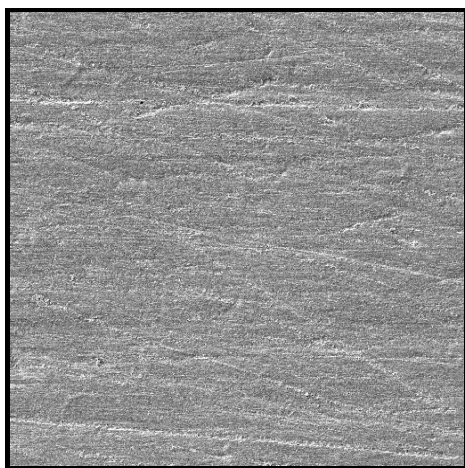


Fig. 28. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada por energia de microondas após tratamento de superfície de 14 dias com gel orobase sem princípio ativo ($R_a=0,14 \mu\text{m}$), em aumento de 200x.

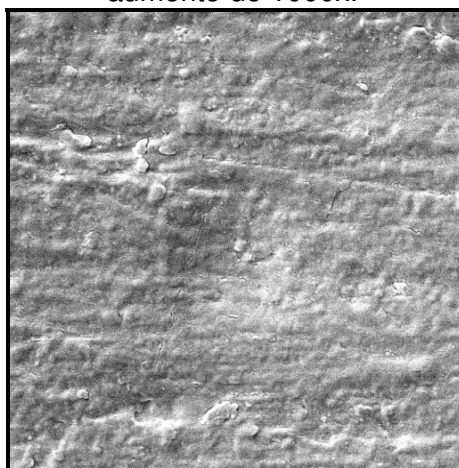


Fig. 29. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada por energia de microondas após tratamento de superfície de 14 dias com gel orobase sem EEP ($R_a=0,14 \mu\text{m}$), em aumento de 3000x.



Fig. 30. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com água destilada ($Ra=0,12 \mu m$), em aumento de 500x.

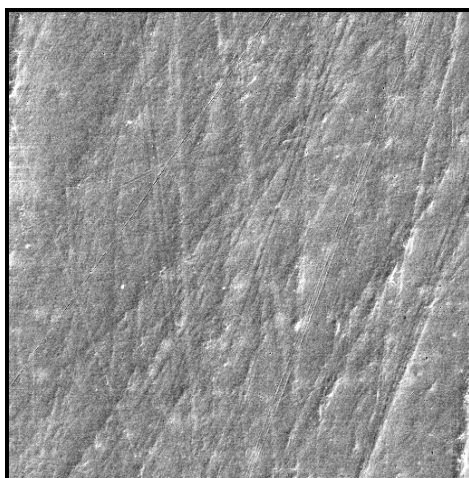


Fig. 31. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com água destilada ($Ra=0,12 \mu m$), em aumento de 1000x.

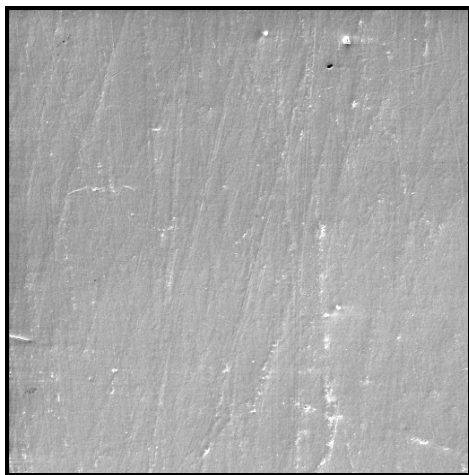


Fig. 32. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com nistatina ($Ra=0,11 \mu m$), em aumento de 500x.

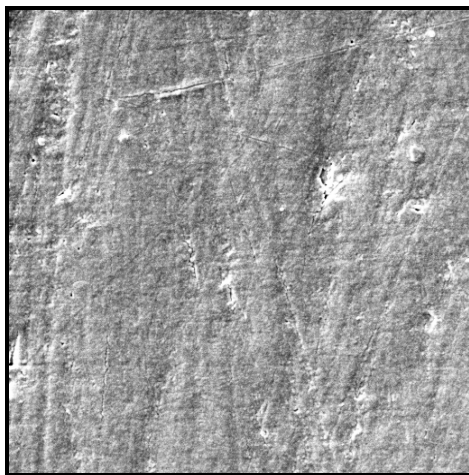


Fig. 33. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com nistatina ($Ra=0,11 \mu m$), em aumento de 3000x.

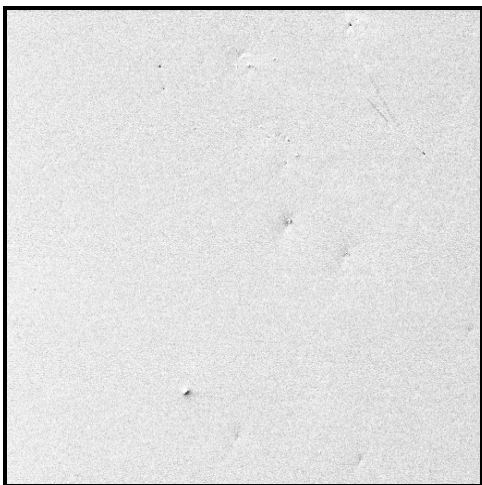


Fig. 34. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com fluconazol ($R_a=0,11\ \mu\text{m}$), em aumento de 200x.

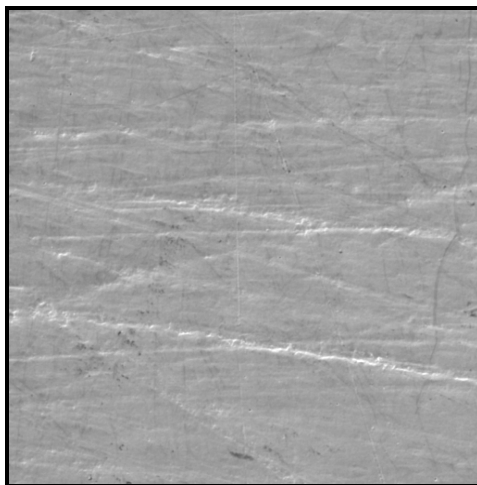


Fig. 35. Amostra representativa de resina acrílica polimerizada em banho de água após tratamento de superfície de 14 dias com fluconazol ($R_a=0,11\ \mu\text{m}$), em aumento de 1000x.

6 Discussão

O uso de agentes antifúngicos como fluconazol e nistatina apresentam eficácia comprovada no tratamento da candidose. (Blomgren *et al.*, 1998) Porém, após a interrupção da terapia farmacológica, a recorrência dos aspectos clínicos inflamatórios pode ser percebida quando da impossibilidade da remoção de seus fatores predisponentes (Bergendal e Isacsson, 1980; Blomgren *et al.*, 1998; Patton *et al.*, 2001), como exemplo a prótese infectada. A interação contínua dos compostos químicos dos agentes antifúngicos fluconazol e nistatina durante o tratamento da candidose com a superfície da resina acrílica poderia provocar alterações nessa superfície que interferiria diretamente na adesão e posterior colonização pela *Candida spp.* Esta hipótese reafirmaria o argumento que prótese dental atuaria como um reservatório de microorganismos (Egusa *et al.*, 2000). Porém, a literatura científica é escassa no que tange os estudos dos efeitos dos agentes antifúngicos sobre a superfície de resina acrílica, corroborando a importância do presente trabalho.

Características como fácil manipulação, custo acessível e estética, entre outras, fazem da resina acrílica o material de escolha para a confecção de bases de prótese removíveis; o uso da energia de microondas na polimerização, reúne todas estas características, somada ao menor tempo, sendo este um aspecto conveniente aos usuários e laboratórios odontológicos. Os espécimes foram dimensionados de maneira que se mantivessem no interior do tubo sempre em uma posição vertical e com ambas as faces em contato com o agente antifúngico. O armazenamento dos mesmos em água destilada durante sete dias foi empregado para se evitar possível interferência do monômero residual liberado nos agentes antifúngicos. O período de sete dias foi usado pois já foi demonstrado que este é suficiente para a eliminação de monômero residual (Oliveira *et al.*, 2003) proporcionando maior confiabilidade nos resultados obtidos.

Nos ensaios realizados, as drogas utilizadas foram padrões de fluconazol e nistatina com o mais alto grau de pureza ao invés de formulações

comercialmente disponíveis. Esta opção justifica-se pela possibilidade do veículo destes agentes, especialmente a nistatina, interagir com a superfície da resina acrílica produzindo um resultado não confiável. A concentração de 2,52 µg/mL utilizada para o fluconazol decorreu de ser o “pico” encontrado na saliva humana após a administração e biotransformação deste agente (Force e Nahata, 1995). O emprego da Nistatina na concentração de 3,12 µg/mL foi escolhida por ser esta a concentração mínima necessária para a inibição de espécies de *Candida* (Ellepola e Samaranayake, 1999). Embora a nistatina seja um agente antifúngico tópico, com três ou mais aplicações diárias (Blomgren *et al.*, 1998; Spiechowicz *et al.*, 1990), os autores optaram pelo seu uso contínuo na citada concentração para se obter uma padronização do estudo e posterior confrontação dos dados obtidos.

O gel em orobase de extrato etanólico de própolis foi manipulado na concentração final de 400 µg/mL, por ser esta a concentração mínima inibitória para o tipo de própolis empregada frente *Candida albicans* (Koo *et al.*, 2000a). A escolha do uso deste agente antifúngico com o veículo em gel orobase foi devido a facilidade para um posterior uso clínico, uma vez que o gel seria de fácil aplicação, com boa incorporação da própolis, a ação de diluição da saliva seria reduzida quando comparado ao emprego de soluções e pela composição química do mesmo. A formulação do gel apresenta carbopol que por ser formulado especialmente para ser inerte aos tecidos orais, levaram os autores a hipotetizar que o mesmo poderia apresentar prejuízos menores sobre a superfície de resina acrílica.

O período de exposição ao agente antifúngico de 14 dias foi empregado para simular o tratamento da candidose (Blomgren *et al.*, 1998; Spiechowicz *et al.*, 1990) e os períodos intermediários de análise foram utilizados com o objetivo de entender melhor o comportamento da resina acrílica durante todo o período de exposição.

A rugosidade superficial é considerada como um dos principais fatores na adesão de *Candida spp.* sobre a superfície de resina acrílica (Quirynen *et al.*, 1990). O aumento na rugosidade encontrada (tabelas 4 e 5) para as resinas

expostas ao gel orobase com EEP, pode ser explicada pela deposição do princípio ativo de própolis sobre a superfície da resina acrílica dos grupos G2 e G7. Mesmo após a escovação dos corpos-de-prova realizada de maneira uniforme, esta deposição pode ser observada nas microfotografias eletrônicas (fig. 24 - 27). A própria deposição do gel (fig. 28 e 29) também pode ter sido um fator responsável pelo aumento da rugosidade superficial nos grupos G1 e G6, pois estes grupos controles também tiveram seus valores de rugosidade aumentados. A escovação dos espécimes também contribuiu para maior rugosidade superficial das resinas expostas a nistatina, fluconazol e água, pois também foi verificada pelas micrografias eletrônicas (fig. 30 - 35) que as superfícies das resinas apresentam-se de maneira similar e diferente do verificado para os grupos expostos ao gel orobase com e sem princípio ativo.

De acordo com os dados das tabelas 4, 5, 10 e 11 é possível verificar que as variáveis de rugosidade superficial e dureza apresentaram um comportamento inversamente proporcional. O acúmulo da propolis sobre a superfície da resina acrílica e conseqüente dificuldade na sorção de água pode ser uma explicação para o aumento de dureza superficial nos grupos de gel manipulado com própolis. A rugosidade aumenta a partir do período que inicia a diminuição dos valores de dureza. Esta condição é vista especialmente nos grupos expostos a água destilada (fig. 10 A e B, 13 A e B) para ambas as resinas acrílicas uma vez que este grupo apresentou menores valores de dureza. A correlação negativa de Pearson foi significativa ($p < 0,0001$) e corrobora este ocorrido (tabela 12).

A diminuição nos valores de dureza para a resina acrílica durante a exposição a água destilada está de acordo com trabalho prévios (Braun *et al.*, 2003; Del Bel Cury *et al.*, 2001) e pode ser explicada pela sorção de água na matriz polimérica. Este fato pode ser extrapolado para os grupos expostos ao fluconazol e a nistatina, que também apresentaram valores diminuídos de dureza, porém menos expressivos quando comparada aos grupos expostos a água destilada. Essa diminuição menos acentuada de dureza pode ser associada ao

tamanho das moléculas de fluconazol ($C_{13}H_{12}N_6OH_2$) e nistatina ($C_{47}H_{75}NO_{17}.2H_2O$) quando comparado as molécula de água, o que dificultaria a sorção pelas resinas acrílicas. A não detecção da liberação de nistatina e fluconazol (fig. 14 - 16) na cromatografia líquida corrobora na confirmação desta explicação.

A diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de dureza para as duas resinas pode ser associada a características dos materiais uma vez que a mensuração inicial para esta propriedade não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$). A baixa disponibilidade de água no gel orobase sem princípio ativo pode ser o fator responsável pelos valores intermediários de dureza para os corpos-de-prova expostos a este material.

O ângulo de contato é utilizado tanto como um indicador da capacidade de molhamento de uma superfície como para o calculo da energia livre de superfície de um sólido (Combe *et al.*, 2004; Sipahi *et al.*, 2001). A superfície de resina acrílica com molhamento ou hidrofobicidade satisfatória pode ajudar a promover uma melhor retenção da prótese na mucosa (Kilani *et al.*, 1984; Monsenego *et al.*, 1989). As médias de ângulo de contato encontradas neste trabalho para as resinas acrílicas termo ativada ($65,3^\circ \pm 4,6^\circ$) e de microondas ($62,7^\circ \pm 4,9^\circ$) estão de acordo com a literatura. (Kilani *et al.*, 1984) Diferenças nos valores de ângulo de contato entre resinas acrílicas com diferentes técnicas de polimerização também são encontradas na literatura. (Radford *et al.*, 1999) Logo a tendência de menores valores médios de ângulo de contato podem representar uma melhora na retentividade da prótese. A diminuição destes valores pode ser explicada pelo fato que após a imersão em água, o aprisionamento de micro gotas de água nos poros da resina acrílica aumenta a hidrofiliabilidade (Monsenego *et al.*, 1989). Uma correlação negativa (Pearson, $p < 0,0001$) entre as propriedades de rugosidade superficial e ângulo de contato pode ser encontrada nos dados deste trabalho. Esta proporção entre estas duas propriedades, discutida anteriormente (Busscher *et al.*, 1984; Kilani *et al.*, 1984), suporta este achado.

O ângulo de contato de um líquido sobre um sólido também é utilizado para o cálculo da energia livre desta superfície que é definida como “o trabalho necessário para aumentar a área de uma substância em um centímetro quadrado” (Combe *et al.*, 2004). O uso de um líquido com tensão superficial conhecida na equação [3], é uma alternativa a metodologias que usam três ou mais líquidos com diferentes propriedades para o cálculo da energia livre de uma superfície (Combe *et al.*, 2004; Sipahi *et al.*, 2001). Contudo, o uso de apenas um líquido não permite o cálculo de outros componentes importantes da energia livre de superfície, com os componentes ácido e básico (Gindl *et al.*, 2001). O método utilizado pelos autores empregando água destilada e deionizada como líquido de tensão superficial conhecida ($72,8 \text{ erg.cm}^{-2}$) (Sipahi *et al.*, 2001) para a mensuração do ângulo de contato, resultou em valores (polimerizada em banho de água = $43,37 \pm 2,91$; microondas = $45,02 \pm 3,10 \text{ erg.cm}^{-2}$) próximos a valores encontrados em outros estudos, mesmos daqueles que empregam mais de um líquido para o cálculo da energia livre de superfície (Busscher *et al.*, 1983; Schakenraad *et al.*, 1986; van der Valk *et al.*, 1983).

Na análise por cromatografia líquida dos meios de imersão dos corpos-de-prova expostos ao gel em orobase é possível verificar o comportamento semelhante na liberação entre ambas as resinas acrílicas ($p>0,05$). O gel em orobase, por ser constituído de compostos hidrossolúveis, dissociou-se na solução de armazenagem conforme verificado nos cromatogramas (fig.17 - 20). Compostos presentes no EEP não foram detectados nestas soluções ficando o mesmo depositado sobre a superfície da resina acrílica (fig. 28 - 29). Essa não solubilização deve-se a natureza resinosa do EEP. Os estudos iniciais (anexo 4) comprovam que os compostos do EEP foram detectados quando as soluções de armazenagem foram substituídas por etanol ao invés de água destilada.

A incorporação de fluconazol e nistatina na matriz da resina acrílica e a possível liberação destes compostos em concentrações abaixo dos níveis recomendados após a suspensão do tratamento, poderia fazer com que as cepas de *Candida* aumentassem seus fatores de virulência e conseqüentemente sua

patogenicidade (Copping *et al.*, 2005). Porém, a ausência de liberação dos agentes antifúngicos fluconazol e nistatina, em ambas concentrações utilizadas demonstram que os episódios de recorrência da candidose estariam ligados a não remoção dos fatores predisponentes e as alterações detectadas na superfície da resina acrílica apresentadas neste trabalho. Embora a deposição de propolis sobre a superfície da resina acrílica (fig. 24 - 27) possa ser o fator responsável pela elevação nos valores de rugosidade, e teoricamente favorecer a adesão de *candida spp.*, esta camada formada é similar a modelo proposto (Milillo *et al.*, 2005) para reduzir a adesão e posterior formação de biofilme de *Candida spp.* sobre a superfície de resina acrílica. Esta camada poderia ainda prolongar os benefícios da propolis para a mucosa inflamada, através de suas propriedades antiinflamatórias e cicatrizantes. Este é um importante potencial e poderia guiar estudos *in vivo* futuros.

7 Conclusão

As superfícies das resinas acrílicas polimerizadas em banho de água ou com energia de microondas expostas aos agentes antifúngicos fluconazol, nistatina e gel orobase de própolis apresentaram alterações na rugosidade superficial, indicando a necessidade da substituição da prótese dental após o tratamento de candidose, uma vez que essas alterações favorecem a possibilidade da recorrência desta patologia.

Referências *

- Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. **J Oral Rehabil** 1987; 14 (3): 217-27.
- Bergendal T, Isacson G. Effect of nystatin in the treatment of denture stomatitis. **Scand J Dent Res** 1980; 88 (5): 446-54.
- Blomgren J, Berggren U, Jontell M. Fluconazole versus nystatin in the treatment of oral candidosis. **Acta Odontol Scand** 1998; 56 (4): 202-5.
- 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.
- Braun KO, Mello JA, Rached RN, Del Bel Cury AA. Surface texture and some properties of acrylic resins submitted to chemical polishing. **J Oral Rehabil** 2003; 30 (1): 91-8.
- Busscher H, Pelt Av, Jong Hd, Arends J. Effect of spreading pressure on surface free energy determinations by means of contact angle measurements. **J Colloid Interface Sci** 1983; 95 (1): 23-27.
- Busscher HJ, Pelt AWJV, Boer Pd, Jong HPd, Arends J. The effect of surface roughening of polymers on measured contact angles of liquids. **Colloids and Surfaces** 1984; 9: 319-331.
- Canuto MM, Gutierrez Roderio F. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. **Lancet Infect Dis** 2002; 2 (9): 550-63.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

- Chow CK, Matear DW, Lawrence HP. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. **Gerodontology** 1999; 16 (2): 110-8.
- Combe EC, Owen BA, Hodges JS. A protocol for determining the surface free energy of dental materials. **Dent Mater** 2004; 20 (3): 262-8.
- Copping VM, Barelle CJ, Hube B, Gow NA, Brown AJ, Odds FC. Exposure of *Candida albicans* to antifungal agents affects expression of SAP2 and SAP9 secreted proteinase genes. **J Antimicrob Chemother** 2005; 55 (5): 645-54.
- Cross LJ, Bagg J, Wray D, Aitchison T. A comparison of fluconazole and itraconazole in the management of denture stomatitis: a pilot study. **J Dent** 1998; 26 (8): 657-64.
- Del Bel Cury AA, Rached RN, Ganzarolli SM. Microwave-cured acrylic resins and silicone-gypsum moulding technique. **J Oral Rehabil** 2001; 28 (5): 433-8.
- Egusa H, Ellepola AN, Nikawa H, Hamada T, Samaranayake LP. Exposure to subtherapeutic concentrations of polyene antifungals suppresses the adherence of *Candida* species to denture acrylic. **Chemotherapy** 2000; 46 (4): 267-74.
- Ellepola AN, Samaranayake LP. The in vitro post-antifungal effect of nystatin on *Candida* species of oral origin. **J Oral Pathol Med** 1999; 28 (3): 112-6.
- Force RW, Nahata MC. Salivary concentrations of ketoconazole and fluconazole: implications for drug efficacy in oropharyngeal and esophageal candidiasis. **Ann Pharmacother** 1995; 29 (1): 10-5.

- Foulds G, Brennan DR, Wajszczuk C, Catanzaro A, Garg DC, Knopf W, *et al.* Fluconazole penetration into cerebrospinal fluid in humans. **J Clin Pharmacol** 1988; 28 (4): 363-6.
- Gindl M, Sinn G, Gindl W, Reiterer A, Tschegg S. A comparison of different methods to calculate the surface free energy of wood using contact angle measurements. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects** 2001; 181 (1-3): 279–287.
- Harish Z, Rubinstein A, Golodner M, Elmaliah M, Mizrachi Y. Suppression of HIV-1 replication by propolis and its immunoregulatory effect. **Drugs Exp Clin Res** 1997; 23 (2): 89-96.
- Kilani BH, Retief DH, Guldag MV, Castleberry DJ, Fischer TE. Wettability of selected denture base materials. **J Prosthet Dent** 1984; 52 (2): 288-91.
- Koo H, Gomes BP, Rosalen PL, Ambrosano GM, Park YK, Cury JA. In vitro antimicrobial activity of propolis and Arnica montana against oral pathogens. **Arch Oral Biol** 2000a; 45 (2): 141-8.
- Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Ambrosano GM, Murata RM, Yatsuda R, *et al.* Effect of a new variety of Apis mellifera propolis on mutans Streptococci. **Curr Microbiol** 2000b; 41 (3): 192-6.
- Milillo L, Lo Muzio L, Carlino P, Serpico R, Coccia E, Scully C. Candida-related denture stomatitis: a pilot study of the efficacy of an amorolfine antifungal varnish. **Int J Prosthodont** 2005; 18 (1): 55-9.

- Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H. Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. **Infect Immun** 1985; 47 (1): 11-4.
- Monsenego P, Baszkin A, Costa ML, Lejoyeux J. Complete denture retention. Part II: Wettability studies on various acrylic resin denture base materials. **J Prosthet Dent** 1989; 62 (3): 308-12.
- Neumann AW, Good RJ, Hoppe CJ, Sejpal M. An equation-of-state approach to determine surface tensions of low-energy solids from contact angles. **Journal of Colloid and Interface Science** 1974; 49 (2): 291 - 304.
- Oliveira VM, Leon BL, Del Bel Cury AA, Consani S. Influence of number and position of flasks in the monomer release, Knoop hardness and porosity of a microwave-cured acrylic resin. **J Oral Rehabil** 2003; 30 (11): 1104-8.
- Ostrosky-Zeichner L, Bazemore S, Paetznick VL, Rodriguez JR, Chen E, Wallace T, *et al.* Differential antifungal activity of isomeric forms of nystatin. **Antimicrob Agents Chemother** 2001; 45 (10): 2781-6.
- Patton LL, Bonito AJ, Shugars DA. A systematic review of the effectiveness of antifungal drugs for the prevention and treatment of oropharyngeal candidiasis in HIV-positive patients. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2001; 92 (2): 170-9.
- 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): 138-44.

Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. **Crit Rev Oral Biol Med** 1999; 10 (1): 99-116.

Schakenraad JM, Busscher HJ, Wildevuur CR, Arends J. The influence of substratum surface free energy on growth and spreading of human fibroblasts in the presence and absence of serum proteins. **J Biomed Mater Res** 1986; 20 (6): 773-84.

Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. **J Dent** 2001; 29 (3): 197-204.

Spiechowicz E, Santarpia RP, 3rd, Pollock JJ, Renner RP. In vitro study on the inhibiting effect of different agents on the growth of *Candida albicans* on acrylic resin surfaces. **Quintessence Int** 1990; 21 (1): 35-40.

van der Valk P, van Pelt AW, Busscher HJ, de Jong HP, Wildevuur CR, Arends J. Interaction of fibroblasts and polymer surfaces: relationship between surface free energy and fibroblast spreading. **J Biomed Mater Res** 1983; 17 (5): 807-17.

Anexos

ANEXO 1
Valores Individuais

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G1.

0					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,10	0,13	0,11	0,02
2	0,09	0,12	0,11	0,11	0,02
3	0,07	0,07	0,08	0,07	0,01
4	0,08	0,07	0,07	0,07	0,01
5	0,07	0,06	0,06	0,06	0,01
6	0,06	0,05	0,09	0,07	0,02
7	0,06	0,05	0,06	0,06	0,01
8	0,07	0,10	0,09	0,09	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G1.

3					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,08	0,09	0,09	0,01
2	0,09	0,08	0,07	0,08	0,01
3	0,10	0,09	0,08	0,09	0,01
4	0,12	0,12	0,09	0,11	0,02
5	0,07	0,09	0,06	0,07	0,01
6	0,05	0,09	0,09	0,08	0,02
7	0,07	0,10	0,08	0,08	0,01
8	0,08	0,10	0,10	0,10	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G1.

7					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,11	0,13	0,10	0,12	0,02
2	0,09	0,11	0,10	0,10	0,01
3	0,11	0,12	0,09	0,11	0,01
4	0,12	0,14	0,10	0,12	0,02
5	0,07	0,13	0,08	0,10	0,03
6	0,09	0,12	0,09	0,10	0,02
7	0,07	0,10	0,09	0,09	0,02
8	0,08	0,13	0,08	0,09	0,03

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G1.

10					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,15	0,13	0,13	0,01
2	0,10	0,16	0,12	0,13	0,03
3	0,11	0,12	0,11	0,11	0,01
4	0,08	0,14	0,11	0,11	0,03
5	0,09	0,13	0,10	0,11	0,02
6	0,09	0,12	0,08	0,10	0,02
7	0,09	0,14	0,10	0,11	0,02
8	0,09	0,14	0,08	0,11	0,03

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G1.

14					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,18	0,17	0,16	0,17	0,01
2	0,15	0,16	0,16	0,16	0,01
3	0,17	0,18	0,16	0,17	0,01
4	0,11	0,14	0,12	0,12	0,02
5	0,07	0,16	0,14	0,12	0,05
6	0,10	0,13	0,12	0,11	0,02
7	0,11	0,13	0,09	0,11	0,02
8	0,11	0,18	0,10	0,13	0,04

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G2.

0					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,10	0,11	0,11	0,02
2	0,13	0,12	0,09	0,10	0,00
3	0,09	0,11	0,13	0,11	0,02
4	0,07	0,07	0,06	0,07	0,00
5	0,09	0,05	0,07	0,07	0,02
6	0,07	0,09	0,08	0,08	0,01
7	0,07	0,07	0,05	0,06	0,01
8	0,07	0,05	0,06	0,06	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G2.

3					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,13	0,13	0,13	0,00
2	0,11	0,14	0,12	0,12	0,01
3	0,12	0,12	0,12	0,12	0,00
4	0,08	0,09	0,08	0,08	0,01
5	0,08	0,09	0,06	0,08	0,01
6	0,13	0,15	0,09	0,12	0,03
7	0,10	0,09	0,07	0,09	0,02
8	0,11	0,08	0,09	0,09	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G2.

7					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,15	0,14	0,14	0,01
2	0,12	0,14	0,12	0,13	0,01
3	0,12	0,12	0,11	0,12	0,01
4	0,11	0,12	0,15	0,13	0,02
5	0,14	0,13	0,11	0,13	0,01
6	0,11	0,15	0,15	0,14	0,02
7	0,12	0,14	0,11	0,12	0,01
8	0,11	0,14	0,15	0,14	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G2.

10					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,14	0,14	0,13	0,14	0,00
2	0,11	0,15	0,12	0,13	0,02
3	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00
4	0,12	0,14	0,15	0,14	0,01
5	0,16	0,12	0,14	0,14	0,02
6	0,14	0,15	0,13	0,14	0,01
7	0,14	0,15	0,14	0,15	0,01
8	0,13	0,14	0,15	0,14	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G2.

14					
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,16	0,21	0,16	0,18	0,03
2	0,22	0,21	0,19	0,21	0,02
3	0,20	0,18	0,18	0,19	0,01
4	0,13	0,17	0,12	0,14	0,03
5	0,13	0,15	0,13	0,14	0,01
6	0,15	0,16	0,11	0,14	0,03
7	0,15	0,14	0,16	0,15	0,01
8	0,14	0,15	0,13	0,14	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G3.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,12	0,12	0,11	0,12	0,01
2	0,13	0,09	0,08	0,10	0,03
3	0,12	0,11	0,13	0,12	0,01
4	0,07	0,05	0,08	0,07	0,02
5	0,10	0,06	0,07	0,08	0,02
6	0,07	0,10	0,08	0,08	0,01
7	0,10	0,06	0,08	0,08	0,02
8	0,09	0,06	0,06	0,07	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G3.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,08	0,11	0,10	0,02
2	0,11	0,12	0,07	0,10	0,02
3	0,13	0,09	0,08	0,10	0,03
4	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
5	0,05	0,06	0,08	0,06	0,01
6	0,07	0,06	0,06	0,06	0,00
7	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
8	0,06	0,06	0,05	0,06	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G3.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,12	0,11	0,09	0,11	0,01
2	0,09	0,12	0,12	0,11	0,02
3	0,12	0,09	0,10	0,10	0,02
4	0,08	0,10	0,08	0,09	0,01
5	0,08	0,09	0,07	0,08	0,01
6	0,08	0,10	0,06	0,08	0,02
7	0,06	0,06	0,09	0,07	0,02
8	0,06	0,07	0,07	0,06	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G3.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,12	0,12	0,11	0,01
2	0,10	0,13	0,12	0,11	0,01
3	0,12	0,12	0,11	0,12	0,00
4	0,09	0,11	0,07	0,09	0,02
5	0,09	0,09	0,08	0,09	0,00
6	0,07	0,09	0,09	0,08	0,01
7	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00
8	0,07	0,08	0,07	0,07	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G3.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,16	0,14		0,15	0,01
2	0,14	0,11	0,18	0,14	0,04
3	0,15	0,13	0,18	0,15	0,02
4	0,12	0,10	0,12	0,11	0,01
5	0,11	0,10	0,09	0,10	0,01
6	0,12	0,13	0,11	0,12	0,01
7	0,10	0,12	0,11	0,11	0,01
8	0,09	0,12	0,09	0,10	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G4.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,11	0,12	0,09	0,10	0,02
2	0,10	0,10	0,09	0,10	0,01
3	0,08	0,08	0,08	0,08	0,00
4	0,10	0,08	0,08	0,08	0,01
5	0,09	0,05	0,05	0,07	0,02
6	0,08	0,05	0,07	0,07	0,01
7	0,06	0,07	0,07	0,07	0,00
8	0,05	0,07	0,08	0,07	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G4.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,08	0,09	0,07	0,08	0,01
2	0,09	0,08	0,07	0,08	0,01
3	0,12	0,10	0,08	0,10	0,02
4	0,06	0,07	0,07	0,06	0,00
5	0,05	0,07	0,06	0,06	0,01
6	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
7	0,07	0,07	0,10	0,08	0,02
8	0,06	0,10	0,07	0,07	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G4.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,07	0,08	0,09	0,08	0,01
2	0,07	0,07	0,08	0,07	0,00
3	0,08	0,10	0,10	0,09	0,01
4	0,09	0,07	0,08	0,08	0,01
5	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
6	0,06	0,06	0,07	0,07	0,01
7	0,06	0,07	0,07	0,07	0,01
8	0,06	0,08	0,06	0,07	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G4.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,09	0,09	0,09	0,00
2	0,09	0,11	0,08	0,09	0,01
3	0,09	0,08	0,09	0,09	0,00
4	0,07	0,08	0,07	0,07	0,01
5	0,07	0,07	0,06	0,07	0,01
6	0,07	0,10	0,06	0,07	0,02
7	0,07	0,08	0,07	0,07	0,01
8	0,09	0,08	0,07	0,08	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G4.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,12	0,10	0,12	0,02
2	0,14	0,09	0,11	0,11	0,03
3	0,16	0,08	0,10	0,11	0,04
4	0,11	0,10	0,09	0,10	0,01
5	0,11	0,12	0,11	0,11	0,00
6	0,09	0,11	0,07	0,09	0,02
7	0,09	0,10	0,10	0,10	0,01
8	0,10	0,14	0,06	0,10	0,04

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G5.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,09	0,10	0,09	0,01
2	0,10	0,08	0,09	0,09	0,01
3	0,10	0,07	0,09	0,09	0,01
4	0,06	0,06	0,07	0,06	0,01
5	0,09	0,10	0,09	0,09	0,01
6	0,09	0,07	0,07	0,08	0,01
7	0,08	0,09	0,08	0,09	0,01
8	0,05	0,05	0,08	0,06	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G5.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,07	0,07	0,08	0,07	0,00
2	0,06	0,07	0,09	0,07	0,01
3	0,09	0,09	0,08	0,09	0,01
4	0,07	0,06	0,07	0,07	0,01
5	0,08	0,09	0,07	0,08	0,01
6	0,07	0,06	0,06	0,06	0,00
7	0,08	0,09	0,05	0,07	0,02
8	0,07	0,07	0,08	0,07	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G5.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,11	0,10	0,10	0,00
2	0,08	0,08	0,07	0,08	0,01
3	0,11	0,11	0,10	0,11	0,01
4	0,09	0,10	0,10	0,10	0,01
5	0,11	0,11	0,10	0,10	0,01
6	0,07	0,09	0,07	0,08	0,01
7	0,08	0,09	0,08	0,08	0,00
8	0,08	0,08	0,06	0,07	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G5.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,09	0,09	0,09	0,01
2	0,09	0,10	0,10	0,10	0,00
3	0,10	0,11	0,10	0,10	0,01
4	0,09	0,09	0,09	0,09	0,00
5	0,09	0,09	0,09	0,09	0,00
6	0,07	0,08	0,07	0,08	0,01
7	0,10	0,08	0,08	0,09	0,01
8	0,07	0,10	0,08	0,08	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G5.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,15	0,09	0,11	0,11	0,03
2	0,11	0,09	0,14	0,12	0,03
3	0,15	0,11	0,10	0,12	0,02
4	0,08	0,09	0,12	0,10	0,02
5	0,10	0,12	0,09	0,10	0,01
6	0,11	0,14	0,10	0,12	0,02
7	0,11	0,13	0,10	0,11	0,01
8	0,09	0,10	0,09	0,09	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G6.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,14	0,14	0,13	0,00
2	0,11	0,06	0,09	0,09	0,02
3	0,09	0,07	0,07	0,08	0,01
4	0,10	0,08	0,07	0,09	0,02
5	0,06	0,09	0,10	0,08	0,02
6	0,07	0,06	0,09	0,07	0,02
7	0,07	0,06	0,07	0,07	0,00
8	0,07	0,08	0,08	0,08	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G6.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,11	0,08	0,07	0,09	0,02
2	0,09	0,07	0,09	0,08	0,01
3	0,15	0,12	0,13	0,13	0,02
4	0,11	0,11	0,11	0,11	0,00
5	0,06	0,11	0,09	0,08	0,02
6	0,06	0,06	0,08	0,07	0,01
7	0,07	0,10	0,06	0,08	0,02
8	0,06	0,08	0,10	0,08	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G6.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,13	0,11	0,11	0,02
2	0,10	0,12	0,10	0,11	0,01
3	0,17	0,16	0,15	0,16	0,01
4	0,10	0,14	0,08	0,10	0,03
5	0,08	0,14	0,06	0,09	0,04
6	0,06	0,09	0,12	0,09	0,03
7	0,09	0,09	0,07	0,08	0,01
8	0,08	0,11	0,08	0,09	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G6.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,14	0,11	0,11	0,02
2	0,11	0,14	0,10	0,12	0,02
3	0,17	0,20	0,17	0,18	0,02
4	0,11	0,15	0,08	0,11	0,04
5	0,10	0,11	0,10	0,11	0,01
6	0,09	0,10	0,10	0,10	0,01
7	0,10	0,11	0,09	0,10	0,01
8	0,08	0,10	0,14	0,11	0,03

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G6.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,16	0,14		0,15	0,02
2	0,16	0,16	0,20	0,18	0,02
3	0,20	0,20		0,20	0,00
4	0,12	0,18	0,11	0,14	0,04
5	0,10	0,13	0,10	0,11	0,02
6	0,11	0,13	0,10	0,11	0,02
7	0,11	0,13	0,11	0,12	0,01
8	0,10	0,13	0,10	0,11	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G7.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,11	0,07	0,09	0,02
2	0,06	0,07	0,06	0,07	0,00
3	0,14	0,11	0,08	0,11	0,03
4	0,08	0,08	0,05	0,07	0,01
5	0,08	0,05	0,06	0,06	0,02
6	0,09	0,10	0,07	0,09	0,01
7	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00
8	0,07	0,06	0,07	0,07	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G7.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,14	0,09	0,11	0,03
2	0,13	0,12	0,14	0,13	0,01
3	0,11	0,09	0,09	0,10	0,01
4	0,11	0,14	0,12	0,12	0,02
5	0,09	0,11	0,08	0,09	0,01
6	0,08	0,11	0,08	0,09	0,02
7	0,08	0,11	0,10	0,10	0,01
8	0,08	0,11	0,08	0,09	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G7.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,12	0,14	0,11	0,13	0,02
2	0,12	0,15	0,15	0,14	0,02
3	0,15	0,13	0,12	0,13	0,01
4	0,13	0,15	0,15	0,14	0,01
5	0,13	0,16	0,13	0,14	0,02
6	0,13	0,13	0,11	0,12	0,01
7	0,16	0,16	0,12	0,15	0,02
8	0,12	0,14	0,10	0,12	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G7.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,18	0,17	0,14	0,16	0,02
2	0,18	0,19	0,17	0,18	0,01
3	0,18	0,19	0,17	0,18	0,01
4	0,13	0,18	0,16	0,15	0,02
5	0,15	0,15	0,14	0,14	0,00
6	0,12	0,13	0,15	0,13	0,01
7	0,14	0,14	0,16	0,15	0,01
8	0,15	0,15	0,13	0,14	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G7.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	
1	0,18	0,18		0,18	
2	0,16	0,19	0,20	0,18	
3	0,20	0,19		0,20	
4	0,15	0,15	0,14	0,15	
5	0,14	0,14	0,15	0,15	
6	0,14	0,13	0,14	0,14	
7	0,15	0,14	0,16	0,15	
8	0,14	0,16	0,14	0,15	

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G8.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,18	0,13	0,15	0,03
2	0,10	0,08	0,10	0,09	0,01
3	0,08	0,08	0,07	0,08	0,01
4	0,10	0,06	0,05	0,07	0,03
5	0,09	0,06	0,07	0,07	0,01
6	0,08	0,07	0,08	0,07	0,01
7	0,07	0,09	0,05	0,07	0,02
8	0,07	0,06	0,07	0,07	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G8.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,16	0,13	0,13	0,03
2	0,09	0,07	0,07	0,08	0,01
3	0,08	0,07	0,07	0,07	0,01
4	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
5	0,06	0,07	0,07	0,07	0,00
6	0,06	0,06	0,07	0,06	0,00
7	0,05	0,06	0,05	0,05	0,00
8	0,05	0,07	0,06	0,06	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G8.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,15	0,12	0,13	0,01
2	0,10	0,12	0,11	0,11	0,01
3	0,12	0,09	0,07	0,09	0,02
4	0,09	0,13	0,07	0,10	0,03
5	0,08	0,12	0,08	0,09	0,02
6	0,07	0,09	0,10	0,09	0,01
7	0,09	0,08	0,09	0,09	0,01
8	0,09	0,10	0,09	0,09	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G8.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,15	0,14	0,14	0,14	0,01
2	0,08	0,10	0,09	0,09	0,01
3	0,07	0,10	0,08	0,08	0,01
4	0,08	0,16	0,08	0,11	0,04
5	0,09	0,10	0,09	0,09	0,00
6	0,08	0,10	0,08	0,09	0,01
7	0,10	0,07	0,07	0,08	0,02
8	0,08	0,09	0,08	0,08	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G8.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,18	0,18	0,15	0,17	0,02
2	0,15	0,13	0,13	0,14	0,01
3	0,13	0,12	0,13	0,13	0,01
4	0,10	0,11	0,10	0,11	0,00
5	0,12	0,12	0,11	0,12	0,01
6	0,13	0,11	0,12	0,12	0,01
7	0,08	0,12	0,11	0,10	0,02
8	0,09	0,11	0,10	0,10	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G9.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,07	0,07	0,08	0,01
2	0,12	0,11	0,09	0,11	0,01
3	0,12	0,13	0,07	0,11	0,03
4	0,07	0,06	0,08	0,07	0,01
5	0,09	0,06	0,06	0,07	0,02
6	0,09	0,07	0,07	0,07	0,01
7	0,10	0,07	0,08	0,08	0,02
8	0,06	0,05	0,06	0,06	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G9.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,08	0,10	0,13	0,11	0,03
2	0,09	0,09	0,10	0,09	0,00
3	0,07	0,08	0,09	0,08	0,01
4	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
5	0,06	0,06	0,07	0,07	0,00
6	0,06	0,07	0,08	0,07	0,01
7	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
8	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G9.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,14	0,11	0,07	0,11	0,03
2	0,08	0,09	0,10	0,09	0,01
3	0,11	0,11	0,10	0,10	0,01
4	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
5	0,06	0,06	0,07	0,06	0,00
6	0,08	0,07	0,05	0,066	0,01
7	0,07	0,06	0,07	0,068	0,01
8	0,06	0,07	0,06	0,063	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G9.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,13	0,08	0,11	0,03
2	0,10	0,11	0,09	0,10	0,01
3	0,10	0,11	0,09	0,10	0,01
4	0,07	0,07	0,06	0,07	0,00
5	0,07	0,08	0,08	0,07	0,01
6	0,06	0,07	0,06	0,06	0,01
7	0,07	0,08	0,07	0,07	0,01
8	0,08	0,08	0,08	0,08	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G9.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,13	0,12	0,12	0,12	0,00
2	0,10	0,11		0,10	0,01
3	0,10	0,09	0,11	0,10	0,01
4	0,09	0,10	0,09	0,09	0,01
5	0,10	0,11	0,10	0,10	0,01
6	0,08	0,11	0,08	0,09	0,01
7	0,09	0,11	0,12	0,11	0,02
8	0,10	0,11	0,08	0,10	0,02

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G10.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,10	0,09	0,08	0,09	0,01
2	0,08	0,07	0,07	0,07	0,00
3	0,11	0,13	0,11	0,12	0,01
4	0,09	0,06	0,07	0,08	0,01
5	0,09	0,07	0,09	0,08	0,01
6	0,09	0,06	0,05	0,07	0,02
7	0,08	0,06	0,05	0,06	0,02
8	0,06	0,05	0,05	0,05	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G10.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,09	0,08	0,07	0,08	0,01
2	0,08	0,08	0,07	0,08	0,01
3	0,13	0,13	0,12	0,13	0,01
4	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00
5	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
6	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
7	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00
8	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G10.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,08	0,07	0,08	0,08	0,01
2	0,09	0,10	0,11	0,10	0,01
3	0,11	0,12	0,11	0,12	0,01
4	0,06	0,08	0,06	0,07	0,01
5	0,05	0,06	0,06	0,06	0,01
6	0,06	0,06	0,06	0,06	0,00
7	0,09	0,07	0,08	0,08	0,01
8	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G10.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,11	0,09	0,08	0,09	0,01
2	0,10	0,09	0,08	0,09	0,01
3	0,12	0,13	0,15	0,13	0,02
4	0,07	0,07	0,07	0,07	0,01
5	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00
6	0,07	0,07	0,06	0,07	0,01
7	0,08	0,08	0,08	0,08	0,00
8	0,07	0,09	0,08	0,08	0,01

Valores de rugosidade superficial (μm)
individuais para o grupo G10.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	média	DP
1	0,17	0,09	0,10	0,12	0,04
2	0,15	0,10	0,10	0,12	0,03
3	0,15	0,17	0,16	0,16	0,01
4	0,12	0,13	0,11	0,12	0,01
5	0,09	0,10	0,10	0,09	0,01
6	0,10	0,11	0,09	0,10	0,01
7	0,10	0,11	0,11	0,10	0,01
8	0,10	0,12	0,09	0,10	0,02

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G1.

0	
Angulação	
1	67,4
2	68,5
3	69,2
4	58,1
5	69,8
6	58,4
7	58,0
8	65,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G1.

3	
Angulação	
1	72,8
2	70,4
3	63,0
4	55,8
5	55,3
6	52,9
7	63,1
8	54,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G1.

7	
Angulação	
1	72,0
2	64,0
3	71,7
4	67,7
5	65,5
6	69,9
7	65,8
8	59,5

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G1.

10	
Angulação	
1	59,8
2	58,0
3	51,2
4	49,8
5	57,1
6	52,9
7	62,3
8	61,1

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G1.

14	
Angulação	
1	57,0
2	63,3
3	61,4
4	59,5
5	64,2
6	69,5
7	62,6
8	57,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G2.

0	
Angulação	
1	69,0
2	67,9
3	66,6
4	66,1
5	71,3
6	68,7
7	61,5
8	59,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G2.

3	
Angulação	
1	63,3
2	50,2
3	61,4
4	62,4
5	72,5
6	58,8
7	59,5
8	59,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G2.

7	
Angulação	
1	71,5
2	54,5
3	62,6
4	65,4
5	55,9
6	61,7
7	55,7
8	57,8

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G2.

10	
Angulação	
1	67,0
2	59,9
3	64,9
4	60,3
5	62,8
6	59,7
7	58,6
8	58,5

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G2.

14	
Angulação	
1	61,8
2	57,7
3	64,0
4	63,6
5	70,4
6	64,5
7	60,0
8	67,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G3.

0	
Angulação	
1	64,6
2	64,6
3	70,4
4	60,9
5	65,8
6	66,7
7	65,8
8	65,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G3.

3	
Angulação	
1	57,7
2	66,1
3	64,5
4	65,2
5	74,7
6	59,5
7	56,7
8	64,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G3.

7	
Angulação	
1	64,5
2	54,3
3	69,4
4	56,4
5	63,4
6	58,5
7	58,5
8	58,7

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G3.

10	
Angulação	
1	61,1
2	66,3
3	56,3
4	64,6
5	51,1
6	67,3
7	56,4
8	54,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G3.

14	
Angulação	
1	57,8
2	55,3
3	58,5
4	55,3
5	62,2
6	63,4
7	60,0
8	53,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G4.

0	
Angulação	
1	56,2
2	66,2
3	70,1
4	67,2
5	74,9
6	66,0
7	57,1
8	65,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G4.

3	
Angulação	
1	64,7
2	68,8
3	58,6
4	67,9
5	56,3
6	62,1
7	74,4
8	56,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G4.

7	
Angulação	
1	54,7
2	65,2
3	64,3
4	56,3
5	68,0
6	62,3
7	66,0
8	60,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G4.

10	
Angulação	
1	55,5
2	66,5
3	63,5
4	54,3
5	61,3
6	61,3
7	56,7
8	65,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G4.

14	
Angulação	
1	65,1
2	63,5
3	51,5
4	55,4
5	55,3
6	59,0
7	54,6
8	53,2

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G5.

0	
Angulação	
1	61,5
2	67,8
3	65,3
4	68,3
5	62,5
6	71,0
7	55,6
8	69,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G5.

3	
Angulação	
1	63,5
2	63,9
3	72,1
4	58,1
5	58,9
6	66,0
7	55,5
8	57,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G5.

7	
Angulação	
1	62,6
2	65,3
3	60,0
4	51,6
5	65,0
6	65,9
7	48,6
8	66,8

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G5.

10	
Angulação	
1	65,5
2	66,3
3	56,2
4	61,4
5	67,6
6	54,0
7	61,4
8	70,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G5.

14	
Angulação	
1	64,3
2	56,9
3	61,3
4	60,6
5	60,1
6	58,5
7	57,9
8	58,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G6.

0	
Angulação	
1	65,7
2	64,6
3	65,8
4	61,5
5	70,4
6	67,6
7	57,5
8	65,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G6.

3	
Angulação	
1	68,0
2	56,3
3	65,9
4	59,9
5	74,4
6	67,6
7	68,0
8	58,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G6.

7	
Angulação	
1	67,4
2	67,4
3	63,6
4	61,1
5	58,9
6	68,3
7	67,9
8	69,1

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G6.

10	
Angulação	
1	64,6
2	68,4
3	66,4
4	58,8
5	68,6
6	62,9
7	61,3
8	59,7

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G6.

14	
Angulação	
1	63,7
2	49,7
3	64,6
4	56,8
5	59,5
6	54,5
7	65,6
8	60,2

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G7.

0	
Angulação	
1	73,6
2	59,2
3	57,3
4	62,9
5	53,8
6	53,5
7	59,8
8	60,1

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G7.

3	
Angulação	
1	67,6
2	63,0
3	69,9
4	56,7
5	55,4
6	56,1
7	63,9
8	64,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G7.

7	
Angulação	
1	62,8
2	68,8
3	59,1
4	55,0
5	58,3
6	58,1
7	60,3
8	65,7

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G7.

10	
Angulação	
1	61,7
2	58,6
3	59,2
4	61,2
5	59,3
6	62,0
7	57,2
8	54,2

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G7.

14	
Angulação	
1	59,3
2	62,0
3	65,0
4	56,4
5	55,1
6	65,0
7	54,9
8	55,8

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G8.

0	
Angulação	
1	55,6
2	65,3
3	64,8
4	69,1
5	63,1
6	62,2
7	68,5
8	63,1

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G8.

3	
Angulação	
1	60,6
2	58,3
3	64,3
4	68,3
5	69,8
6	59,1
7	77,3
8	51,8

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G8.

7	
Angulação	
1	63,4
2	54,8
3	63,5
4	67,0
5	57,5
6	55,5
7	72,2
8	69,9

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G8.

10	
Angulação	
1	57,2
2	61,4
3	71,2
4	52,3
5	57,5
6	61,3
7	65,6
8	62,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G8.

14	
Angulação	
1	57,1
2	65,3
3	50,7
4	66,3
5	56,3
6	64,8
7	63,4
8	63,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G9.

0	
Angulação	
1	65,6
2	67,6
3	60,3
4	65,1
5	55,9
6	68,4
7	54,9
8	63,4

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G9.

3	
Angulação	
1	62,8
2	60,5
3	61,8
4	65,7
5	52,4
6	61,2
7	53,4
8	72,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G9.

7	
Angulação	
1	59,4
2	59,0
3	74,9
4	64,8
5	57,4
6	54,4
7	61,9
8	66,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G9.

10	
Angulação	
1	65,6
2	60,2
3	65,3
4	66,9
5	59,4
6	66,2
7	56,8
8	57,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G9.

14	
Angulação	
1	64,6
2	53,3
3	57,2
4	52,2
5	68,1
6	55,5
7	54,9
8	62,6

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G10.

0	
Angulação	
1	65,5
2	65,5
3	67,9
4	58,6
5	58,4
6	54,7
7	61,6
8	64,0

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G10.

3	
Angulação	
1	66,4
2	57,4
3	66,9
4	66,8
5	56,1
6	55,4
7	68,8
8	62,2

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G10.

7	
Angulação	
1	58,5
2	58,6
3	61,5
4	55,5
5	55,6
6	54,3
7	58,7
8	56,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G10.

10	
Angulação	
1	60,0
2	55,8
3	65,2
4	60,1
5	62,7
6	59,9
7	57,8
8	60,3

Valores de ângulo de contato individuais para o grupo G10.

14	
Angulação	
1	61,3
2	61,8
3	67,9
4	61,5
5	62,0
6	57,2
7	62,4
8	61,3

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G1.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	42,04
2	41,38
3	40,90
4	47,92
5	40,49
6	47,75
7	47,98
8	43,61

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G1.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	41,05
2	41,74
3	42,59
4	42,89
5	39,58
6	41,24
7	45,79
8	47,34

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G1.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	49,09
2	42,82
3	40,31
4	42,21
5	37,28
6	42,95
7	48,51
8	43,21

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G1.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	45,78
2	41,78
3	43,41
4	41,49
5	45,18
6	39,75
7	49,48
8	40,84

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G1.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	43,86
2	43,83
3	40,16
4	46,14
5	43,08
6	42,53
7	43,06
8	43,58

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G2.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	38,61
2	40,14
3	44,85
4	49,37
5	49,65
6	51,13
7	44,76
8	50,45

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G2.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	44,66
2	43,84
3	45,87
4	45,20
5	38,78
6	47,48
7	47,05
8	47,09

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G2.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	43,77
2	41,19
3	47,61
4	41,71
5	49,04
6	45,38
7	37,60
8	49,20

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G2.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	44,50
2	44,26
3	39,07
4	47,94
5	47,41
6	42,95
7	49,51
8	48,61

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G2.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	48,15
2	42,91
3	43,92
4	43,42
5	37,35
6	47,02
7	48,79
8	44,02

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G3.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	48,62
2	44,66
3	45,87
4	47,05
5	44,06
6	40,69
7	45,11
8	48,45

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G3.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	45,59
2	48,18
3	44,20
4	44,44
5	40,17
6	43,88
7	46,72
8	42,05

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G3.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	43,52
2	44,50
3	51,98
4	49,56
5	49,64
6	47,33
7	50,08
8	50,91

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G3.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	44,05
2	48,68
3	45,94
4	46,34
5	46,68
6	47,67
7	48,05
8	47,74

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G3.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	48,09
2	49,66
3	47,65
4	49,68
5	45,35
6	44,56
7	46,75
8	50,81

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G4.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	39,10
2	44,24
3	39,30
4	41,84
5	43,25
6	40,45
7	43,05
8	47,04

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G4.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	39,44
2	50,12
3	45,12
4	43,34
5	49,28
6	45,67
7	49,41
8	48,12

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G4.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	50,00
2	43,44
3	44,00
4	49,04
5	41,67
6	45,32
7	42,96
8	46,55

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G4.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	45,07
2	43,40
3	46,72
4	51,92
5	43,58
6	43,02
7	42,70
8	42,41

Valores de energia livre de superfície
($\text{erg} \cdot \text{cm}^{-2}$) individuais para o grupo G4.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	43,87
2	50,30
3	40,76
4	48,98
5	44,58
6	47,69
7	47,65
8	47,56

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G5.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	46,89
2	47,95
3	52,18
4	43,51
5	48,54
6	51,11
7	45,30
8	46,01

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G5.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	42,31
2	46,78
3	43,65
4	46,53
5	44,98
6	46,92
7	47,61
8	47,69

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G5.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	49,52
2	42,60
3	44,56
4	50,24
5	45,90
6	45,89
7	48,77
8	43,37

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G5.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	43,26
2	42,73
3	49,11
4	45,84
5	41,94
6	50,43
7	45,83
8	40,23

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G5.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	46,06
2	42,78
3	49,05
4	43,82
5	52,20
6	42,09
7	48,99
8	50,10

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G6.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	43,17
2	43,83
3	43,08
4	45,80
5	40,16
6	41,91
7	48,31
8	43,34

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G6.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	38,06
2	47,24
3	48,39
4	44,91
5	50,57
6	50,77
7	46,88
8	46,67

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G6.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	43,18
2	41,92
3	46,53
4	43,53
5	49,29
6	41,39
7	49,87
8	44,58

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G6.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	43,27
2	43,27
3	41,76
4	47,60
5	47,75
6	50,04
7	45,72
8	44,23

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G6.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	49,48
2	43,38
3	43,69
4	40,97
5	44,77
6	45,36
7	41,37
8	44,78

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G7.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	41,70
2	49,04
3	43,03
4	46,76
5	37,56
6	41,95
7	41,68
8	47,61

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G7.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	41,92
2	44,83
3	40,47
4	48,78
5	49,59
6	49,14
7	44,29
8	43,95

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G7.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	45,00
2	46,41
3	45,60
4	43,13
5	51,45
6	46,00
7	50,84
8	39,09

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G7.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	42,72
2	48,38
3	42,38
4	42,46
5	49,14
6	49,56
7	41,17
8	45,37

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G7.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	46,36
2	47,78
3	44,04
4	41,49
5	40,50
6	47,32
7	35,72
8	51,81

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G8.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	44,38
2	43,48
3	43,86
4	48,75
5	47,03
6	50,14
7	43,22
8	46,61

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G8.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	47,20
2	45,49
3	43,60
4	48,94
5	49,76
6	43,59
7	49,87
8	49,37

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G8.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	43,84
2	50,88
3	48,50
4	51,52
5	41,60
6	49,53
7	49,92
8	45,12

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G8.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	45,94
2	45,57
3	41,76
4	45,79
5	45,46
6	48,48
7	45,22
8	45,91

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G8.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	48,53
2	43,36
3	52,44
4	42,72
5	49,00
6	43,69
7	44,58
8	44,45

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G9.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	42,06
2	42,04
3	44,50
4	46,06
5	47,41
6	41,49
7	41,73
8	40,94

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G9.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	44,97
2	41,16
3	47,31
4	49,84
5	47,79
6	47,92
7	46,55
8	43,15

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G9.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	47,13
2	47,37
3	37,26
4	43,69
5	48,38
6	50,18
7	45,56
8	42,59

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G9.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	47,65
2	47,59
3	45,76
4	49,53
5	49,47
6	50,28
7	47,52
8	49,04

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G9.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	44,62
2	49,94
3	44,53
4	42,30
5	48,32
6	49,53
7	38,96
8	40,49

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G10.

0	
Energia Livre de Superfície	
1	43,85
2	41,39
3	42,69
4	47,45
5	41,27
6	44,89
7	45,93
8	46,93

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G10.

3	
Energia Livre de Superfície	
1	45,68
2	47,60
3	47,24
4	46,00
5	47,20
6	45,50
7	48,50
8	50,34

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G10.

7	
Energia Livre de Superfície	
1	43,21
2	46,59
3	43,40
4	42,35
5	47,10
6	42,79
7	48,73
8	48,23

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G10.

10	
Energia Livre de Superfície	
1	46,74
2	49,34
3	43,46
4	46,68
5	45,01
6	46,79
7	48,13
8	46,56

Valores de energia livre de superfície
(erg . cm⁻²) individuais para o grupo G10.

14	
Energia Livre de Superfície	
1	48,47
2	45,84
3	39,63
4	51,51
5	48,31
6	45,93
7	43,22
8	45,12

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G1.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
0					
1	19,90	18,30	19,90	18,30	20,20
2	16,90	18,00	18,80	19,60	19,60
3	20,50	19,30	19,30	19,90	20,20
4	18,30	19,60	19,60	18,50	19,30
5	18,30	19,30	19,30	18,50	18,30
6	17,80	18,00	18,00	17,50	17,80
7	19,80	18,80	18,50	18,00	17,80
8	19,10	18,00	18,30	18,30	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G1.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
3					
1	19,60	18,80	18,00	18,80	18,80
2	18,80	18,80	19,30	19,10	18,80
3	19,60	18,80	19,90	18,80	19,10
4	17,30	17,80	17,30	18,80	18,50
5	17,50	18,80	17,80	18,80	18,50
6	18,30	18,30	17,50	18,00	18,30
7	17,50	17,50	17,30	17,10	17,80
8	17,80	16,90	17,80	17,80	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G1.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
7					
1	19,30	19,10	19,60	18,00	18,80
2	19,60	19,10	19,30	18,80	19,30
3	19,10	17,50	17,30	19,60	18,80
4	18,00	19,60	18,50	18,80	18,30
5	19,30	19,10	19,10	17,80	18,80
6	17,10	18,30	18,30	17,80	18,30
7	17,30	18,50	18,30	18,30	18,50
8	18,50	18,50	19,60	18,50	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G1.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
10					
1	18,30	18,80	18,50	19,10	18,80
2	17,10	17,80	18,50	18,50	18,80
3	18,50	19,10	18,50	19,10	18,80
4	19,10	18,00	18,50	18,00	18,00
5	18,30	18,80	19,10	19,30	18,30
6	18,50	18,50	18,00	18,30	18,80
7	18,30	19,10	18,00	18,30	17,80
8	19,30	18,50	18,00	18,50	18,50

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G1.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
14					
1	18,80	18,50	18,30	18,80	18,50
2	19,30	18,30	18,30	19,60	18,80
3	19,30	20,50	19,90	19,10	19,90
4	18,30	19,30	18,30	18,00	19,10
5	18,00	18,50	19,10	18,50	18,50
6	18,30	18,00	18,30	18,30	18,50
7	18,80	19,10	18,30	19,10	18,80
8	18,30	17,50	18,80	18,30	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G2.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
0					
1	17,80	17,80	17,80	17,30	17,50
2	19,60	19,90	18,50	18,50	18,50
3	18,50	20,20	18,50	17,80	16,00
4	18,30	18,50	18,30	17,80	18,30
5	19,10	18,30	19,30	19,30	19,90
6	18,30	20,50	19,90	20,20	18,30
7	17,80	18,30	18,00	18,80	18,00
8	18,80	19,10	19,30	19,30	19,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G2.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
3					
1	18,90	18,00	18,40	18,60	18,20
2	18,00	18,40	18,60	18,00	18,20
3	19,00	18,00	18,30	18,20	18,20
4	19,30	19,10	18,30	19,60	19,60
5	18,00	19,30	18,80	19,90	18,00
6	20,80	19,60	19,90	20,20	19,30
7	18,80	19,90	19,90	19,10	18,30
8	20,80	20,20	19,60	20,50	19,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G2.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
7					
1	18,80	18,80	18,30	19,10	18,50
2	18,80	18,80	19,30	16,90	19,10
3	18,50	19,60	19,30	18,80	18,80
4	20,20	19,10	19,90	19,10	20,20
5	19,10	18,00	18,80	18,80	18,80
6	19,10	20,80	18,50	19,10	19,30
7	18,80	18,00	19,90	19,30	18,30
8	19,10	18,80	18,80	18,80	19,60

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G2.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
10					
1	17,80	17,30	17,10	17,80	17,10
2	18,30	18,50	19,60	18,80	17,10
3	17,50	18,50	20,20	19,30	18,00
4	18,30	18,80	18,50	18,80	18,80
5	18,80	18,50	18,80	18,80	19,30
6	19,10	19,10	18,80	19,10	19,30
7	18,80	18,80	18,80	19,10	18,80
8	18,30	18,50	18,80	19,90	19,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G2.

	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
14					
1	19,10	18,80	18,00	18,00	18,80
2	18,30	18,50	19,10	18,50	18,80
3	19,10	19,90	19,30	19,30	19,10
4	19,90	18,80	19,10	19,30	19,10
5	18,50	18,30	19,10	18,50	19,60
6	19,90	19,90	19,30	19,10	19,30
7	18,30	19,30	19,60	19,60	18,50
8	19,10	18,50	18,80	19,60	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G3.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,10	18,30	18,30	18,80	18,00
2	18,50	18,50	18,50	18,00	17,80
3	17,80	19,10	18,00	18,30	18,50
4	20,80	19,60	19,30	19,60	18,80
5	18,00	18,80	18,50	18,80	18,30
6	19,90	19,90	20,80	20,20	19,60
7	19,30	18,50	18,80	18,30	17,80
8	18,50	18,80	20,20	19,90	19,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G3.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,80	18,80	18,80	18,50	18,00
2	17,30	18,80	17,90	18,30	19,30
3	17,80	17,30	17,80	17,50	17,50
4	18,80	18,00	18,50	18,80	18,50
5	18,30	18,80	17,10	18,30	18,50
6	18,30	18,80	19,60	18,00	18,00
7	19,30	18,30	18,00	17,80	17,80
8	17,80	17,50	17,30	18,50	17,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G3.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,80	17,30	17,30	17,30	17,80
2	17,80	17,30	17,30	17,30	17,30
3	16,90	16,60	16,90	17,50	17,50
4	17,50	18,50	18,80	17,50	18,50
5	18,30	18,50	17,50	17,50	17,30
6	18,00	18,80	17,80	17,10	17,30
7	17,80	17,80	18,30	18,50	18,30
8	18,00	18,00	18,00	18,00	17,50

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G3.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,30	18,50	17,50	17,30	17,80
2	18,00	17,80	18,00	18,30	18,30
3	17,80	17,50	18,00	18,50	17,80
4	18,50	17,30	18,00	17,50	17,50
5	18,50	18,50	18,00	18,30	17,80
6	18,30	17,50	18,50	17,80	18,00
7	17,80	18,30	18,50	18,30	18,00
8	17,80	17,30	17,30	17,30	17,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G3.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,30	18,50	19,10	18,30	17,80
2	18,00	17,80	18,80	18,00	19,30
3	18,50	18,30	18,50	18,00	17,50
4	18,50	18,50	18,00	17,80	18,00
5	17,10	18,00	17,80	18,30	18,00
6	18,00	17,50	19,10	18,50	18,80
7	17,80	18,30	18,00	17,80	18,30
8	18,00	18,00	18,30	18,30	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G4.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,00	17,30	18,00	17,50	18,50
2	17,80	17,80	17,50	18,50	17,80
3	17,50	17,80	18,30	18,80	18,30
4	18,50	18,80	18,00	19,30	18,00
5	19,90	18,80	18,00	19,30	19,60
6	18,50	17,30	18,30	18,30	18,30
7	18,50	17,80	17,80	19,10	18,50
8	18,50	17,30	18,50	18,30	17,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G4.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,00	18,30	18,80	18,00	17,80
2	18,30	18,30	18,50	18,50	18,30
3	17,50	17,50	18,80	18,00	18,80
4	16,90	18,00	17,80	18,00	17,50
5	17,50	18,30	18,30	16,90	17,10
6	18,00	17,80	17,30	17,80	18,00
7	18,30	18,00	17,50	17,30	18,00
8	17,50	16,90	18,00	18,00	17,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G4.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,50	17,30	18,50	18,00	18,00
2	18,00	18,30	17,30	17,80	17,80
3	17,80	18,00	17,50	17,80	17,10
4	18,80	18,00	18,30	17,80	18,50
5	18,00	18,30	18,30	19,10	18,00
6	18,50	17,80	18,00	18,30	17,80
7	18,30	17,80	18,80	17,50	18,80
8	17,80	18,30	17,80	18,00	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G4.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,80	18,00	17,30	18,30	18,80
2	17,50	17,10	17,50	17,80	17,50
3	17,30	17,50	17,50	17,50	17,80
4	17,80	17,80	18,30	17,50	17,80
5	19,10	18,50	18,80	18,50	18,80
6	18,00	17,80	19,10	17,30	18,50
7	18,00	17,10	17,80	17,80	18,00
8	17,80	17,80	17,50	17,80	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G4.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,50	16,90	18,50	17,50	18,00
2	18,30	17,80	18,80	17,80	18,50
3	18,80	18,00	17,30	18,30	17,30
4	18,00	17,50	19,10	18,30	18,50
5	18,00	18,80	18,80	18,50	18,80
6	17,80	18,00	18,30	18,00	17,80
7	17,80	18,50	19,60	18,80	17,80
8	17,30	17,30	18,30	17,80	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G5.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,00	17,50	19,10	18,00	18,80
2	17,30	17,50	18,50	18,80	17,50
3	16,90	18,50	18,00	18,30	18,50
4	19,60	18,00	19,10	19,90	18,50
5	17,30	18,80	18,30	18,30	18,50
6	18,80	19,60	19,10	18,30	18,50
7	19,10	18,50	17,80	17,80	19,30
8	18,30	18,30	18,00	18,80	17,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G5.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,00	18,80	18,80	17,80	18,30
2	18,30	17,80	17,80	18,30	17,30
3	18,80	17,80	18,80	18,80	18,50
4	18,00	18,60	18,30	17,50	17,10
5	17,50	18,50	17,50	18,30	18,30
6	18,00	17,00	18,30	17,80	17,30
7	17,80	18,00	16,90	17,50	18,00
8	18,50	17,80	17,80	17,80	17,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G5.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,50	16,90	17,50	18,00	17,30
2	18,80	17,10	17,50	17,50	17,30
3	17,80	18,80	18,30	17,50	18,00
4	17,80	18,30	18,30	17,80	17,80
5	17,50	17,80	17,80	18,30	17,50
6	18,50	18,00	18,80	18,30	17,80
7	18,30	18,50	18,80	17,30	17,80
8	18,50	18,30	18,30	18,00	18,50

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G5.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,80	18,00	18,00	19,10	18,00
2	17,80	17,80	18,00	17,80	18,30
3	17,50	18,30	18,00	17,30	18,50
4	18,50	18,80	18,30	19,10	18,30
5	17,80	17,30	17,80	18,00	18,30
6	18,30	18,00	18,50	17,80	18,50
7	18,00	18,30	17,50	17,80	17,50
8	18,30	17,30	17,50	18,50	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G5.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,00	18,50	17,30	17,30	17,30
2	18,30	18,30	18,30	18,00	18,50
3	18,00	18,00	18,80	18,50	17,80
4	18,00	18,30	18,80	19,30	18,30
5	18,00	18,80	18,50	18,00	18,30
6	19,10	18,00	18,00	18,30	18,50
7	18,50	18,00	18,50	18,00	17,50
8	18,30	18,50	18,00	18,30	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G6.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,50	19,30	19,90	18,50	20,20
2	16,90	18,30	17,30	19,30	17,30
3	18,50	18,30	19,60	17,80	19,10
4	19,30	19,10	18,00	19,30	18,30
5	18,30	18,50	18,50	18,30	18,80
6	19,10	19,10	18,00	19,90	18,30
7	18,50	18,80	18,80	17,80	17,80
8	18,50	18,50	18,30	18,80	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G6.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,60	18,30	19,90	20,20	19,10
2	18,30	18,80	19,30	19,60	18,80
3	19,60	19,10	18,80	19,30	19,10
4	18,00	18,80	18,80	19,10	18,50
5	19,10	17,80	18,30	17,30	18,80
6	17,80	19,60	18,50	18,00	18,30
7	17,80	18,80	19,10	19,10	17,50
8	18,80	19,30	18,80	18,30	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G6.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,50	17,50	17,10	19,10	17,80
2	16,90	17,30	17,30	18,80	18,80
3	17,80	17,80	18,80	17,80	18,30
4	18,00	17,80	18,50	17,50	17,80
5	17,10	17,30	17,80	18,00	18,30
6	18,50	18,80	18,50	18,80	18,80
7	18,80	17,50	19,60	18,30	17,50
8	18,80	17,80	18,80	18,80	18,50

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G6.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	17,50	17,80	18,80	17,80	17,80
2	18,00	17,50	19,10	17,50	18,00
3	17,30	17,80	17,10	18,50	17,30
4	18,00	18,00	17,30	18,00	17,50
5	18,30	18,50	18,50	18,00	18,50
6	18,80	18,80	19,10	18,80	18,50
7	17,50	19,10	18,50	18,00	18,30
8	18,80	19,90	18,50	18,50	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G6.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,30	18,50	18,50	18,00	18,50
2	18,50	18,50	17,30	17,50	18,80
3	17,80	17,80	18,50	18,30	18,50
4	18,50	19,30	18,80	18,80	17,50
5	17,30	17,80	18,30	18,30	17,50
6	18,00	18,00	18,50	17,80	18,00
7	17,30	18,00	17,50	17,50	18,30
8	18,00	18,30	18,80	18,50	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G7.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,50	17,50	18,80	18,30	17,80
2	18,30	16,40	19,60	19,60	18,50
3	19,30	19,90	18,00	19,60	18,00
4	19,60	19,60	19,60	19,10	18,30
5	18,80	18,00	18,50	18,30	18,50
6	17,80	18,00	18,50	17,80	17,80
7	18,30	19,10	18,00	19,30	18,80
8	18,00	18,30	19,10	19,60	17,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G7.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	16,20	17,10	17,10	16,60	17,10
2	16,40	17,30	16,20	16,90	17,10
3	16,90	16,90	17,30	17,30	17,10
4	18,80	19,90	19,60	20,50	19,10
5	21,10	20,50	20,20	20,50	20,50
6	19,10	18,30	19,60	20,50	19,30
7	19,10	20,50	19,90	18,00	19,10
8	19,30	19,30	19,10	18,80	19,60

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G7.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,30	18,70	17,20	18,80	19,70
2	19,30	19,10	17,30	18,50	17,50
3	18,00	18,80	19,10	18,80	17,80
4	18,80	20,20	18,50	18,80	18,80
5	19,90	19,90	19,60	19,10	20,50
6	18,80	19,90	19,60	18,00	18,80
7	18,50	19,90	19,30	19,10	18,50
8	18,50	20,50	18,00	20,50	19,90

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G7.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,30	18,50	18,00	18,50	18,80
2	20,50	19,30	19,30	19,90	19,30
3	18,80	19,50	19,10	19,90	19,90
4	19,90	18,80	19,60	19,60	20,20
5	18,80	18,30	18,80	19,30	18,80
6	18,80	18,80	19,30	18,80	19,60
7	19,60	19,60	19,30	19,90	19,60
8	18,50	18,50	18,50	18,30	19,60

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G7.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,30	19,90	19,60	20,20	19,90
2	19,60	18,50	21,10	19,90	19,30
3	21,10	20,80	19,90	20,50	18,80
4	19,60	19,30	18,30	19,10	19,10
5	18,80	19,10	19,10	19,10	19,30
6	18,30	18,80	19,10	19,60	19,10
7	20,20	20,20	19,60	19,10	19,10
8	19,60	19,10	20,50	18,80	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G8.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,50	19,30	21,10	19,60	18,00
2	19,60	19,90	19,90	19,60	19,10
3	19,30	18,30	19,30	18,00	17,30
4	20,20	19,30	18,50	19,30	19,30
5	17,10	18,30	17,50	18,00	17,80
6	18,30	18,50	19,30	18,30	18,80
7	17,80	19,30	19,10	19,10	17,50
8	19,10	19,30	18,50	19,10	19,90

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G8.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,80	19,30	19,10	18,30	19,30
2	19,90	19,30	19,90	19,90	19,90
3	18,30	18,80	18,80	18,80	18,80
4	17,50	17,50	18,50	17,80	18,50
5	17,10	18,50	18,00	17,50	18,00
6	18,80	19,10	17,80	18,00	18,80
7	17,50	17,80	18,00	17,50	18,50
8	18,30	18,80	19,30	18,80	19,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G8.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,10	18,30	18,80	17,80	18,80
2	17,30	17,80	17,80	18,00	17,80
3	18,80	18,00	18,00	18,00	18,50
4	19,90	19,60	19,60	19,10	19,10
5	19,10	18,30	18,30	18,00	18,00
6	19,10	18,30	19,60	19,10	17,50
7	18,30	18,30	18,30	18,50	18,30
8	18,30	19,10	19,10	17,50	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G8.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,10	19,60	19,30	19,10	19,10
2	19,10	18,00	18,00	19,30	19,30
3	17,50	18,50	18,00	18,50	18,30
4	17,30	18,80	19,30	18,30	18,50
5	17,30	17,80	18,30	17,30	17,50
6	17,30	18,50	18,50	18,50	18,00
7	17,80	18,50	18,50	18,00	18,30
8	19,10	18,80	18,80	18,50	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G8.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,90	18,80	18,80	19,10	18,80
2	18,00	18,00	19,10	19,10	18,30
3	18,30	18,80	19,10	19,10	17,80
4	17,80	18,30	19,10	18,80	18,80
5	18,00	18,30	18,00	17,50	17,80
6	18,80	18,50	18,80	18,80	18,80
7	18,00	18,80	18,50	18,80	18,80
8	18,50	19,10	18,30	19,10	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G9.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	21,80	18,50	19,30	19,60	19,30
2	18,50	18,30	18,80	19,90	18,30
3	18,00	17,10	17,50	18,80	18,50
4	18,80	19,90	19,10	18,00	18,50
5	19,10	18,80	18,30	19,10	18,80
6	18,00	18,30	18,50	18,50	18,30
7	17,80	19,30	19,10	18,30	18,50
8	18,30	19,30	18,80	18,80	19,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G9.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,80	19,60	19,10	19,30	18,80
2	16,90	19,10	19,10	18,30	19,10
3	18,80	18,80	19,10	18,50	18,80
4	18,80	19,60	18,50	18,00	18,80
5	18,50	17,80	18,80	19,10	17,50
6	17,80	18,30	19,10	18,00	17,50
7	19,10	17,80	18,00	17,50	18,30
8	19,10	17,50	18,80	18,30	19,60

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G9.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,50	18,50	18,50	19,60	19,10
2	18,30	17,30	17,50	19,60	18,00
3	18,00	18,00	16,60	17,50	17,50
4	19,60	19,10	19,10	19,60	18,30
5	18,80	18,80	19,60	18,30	19,60
6	19,30	19,10	18,80	18,80	18,00
7	19,30	19,60	18,50	19,30	18,30
8	18,80	19,30	19,30	19,10	19,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G9.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,30	19,10	19,10	18,80	19,30
2	18,30	18,00	18,30	19,10	17,80
3	17,50	17,10	17,10	17,50	17,50
4	18,00	17,80	18,80	18,30	18,00
5	18,50	18,50	18,80	18,50	18,00
6	18,80	18,00	17,80	17,80	17,80
7	19,10	18,80	18,30	18,80	18,80
8	18,00	19,60	18,30	18,50	18,80

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G9.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,50	19,10	18,00	19,30	19,10
2	19,30	19,60	18,80	18,80	18,80
3	18,00	17,80	18,50	17,80	19,10
4	19,10	19,60	19,10	18,80	19,10
5	18,80	19,60	19,30	19,10	19,10
6	18,50	18,50	18,80	18,50	18,30
7	18,80	18,00	18,50	18,30	18,50
8	19,60	19,10	19,30	18,50	19,10

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G10.

	0				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,90	18,30	19,90	18,30	20,20
2	16,90	18,00	18,80	19,60	19,60
3	20,50	19,30	19,30	19,90	20,20
4	18,30	19,60	19,60	18,50	19,30
5	18,30	19,30	19,30	18,50	18,30
6	17,80	18,00	18,00	17,50	17,80
7	19,80	18,80	18,50	18,00	17,80
8	19,10	18,00	18,30	18,30	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G10.

	3				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,60	18,80	18,00	18,80	18,80
2	18,80	18,80	19,30	19,10	18,80
3	19,60	18,80	19,90	18,80	19,10
4	17,30	17,80	17,30	18,80	18,50
5	17,50	18,80	17,80	18,80	18,50
6	18,30	18,30	17,50	18,00	18,30
7	17,50	17,50	17,30	17,10	17,80
8	17,80	16,90	17,80	17,80	18,30

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G10.

	7				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	19,30	19,10	19,60	18,00	18,80
2	19,60	19,10	19,30	18,80	19,30
3	19,10	17,50	17,30	19,60	18,80
4	18,00	19,60	18,50	18,80	18,30
5	19,30	19,10	19,10	17,80	18,80
6	17,10	18,30	18,30	17,80	18,30
7	17,30	18,50	18,30	18,30	18,50
8	18,50	18,50	19,60	18,50	18,00

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G10.

	10				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,30	18,80	18,50	19,10	18,80
2	17,10	17,80	18,50	18,50	18,80
3	18,50	19,10	18,50	19,10	18,80
4	19,10	18,00	18,50	18,00	18,00
5	18,30	18,80	19,10	19,30	18,30
6	18,50	18,50	18,00	18,30	18,80
7	18,30	19,10	18,00	18,30	17,80
8	19,30	18,50	18,00	18,50	18,50

Valores de dureza superficial (Kg/mm²)
individuais para o grupo G10.

	14				
	Leitura_01	Leitura_02	Leitura_03	Leitura_04	Leitura_05
1	18,80	18,50	18,30	18,80	18,50
2	19,30	18,30	18,30	19,60	18,80
3	19,30	20,50	19,90	19,10	19,90
4	18,30	19,30	18,30	18,00	19,10
5	18,00	18,50	19,10	18,50	18,50
6	18,30	18,00	18,30	18,30	18,50
7	18,80	19,10	18,30	19,10	18,80
8	18,30	17,50	18,80	18,30	18,80

Liberação de Própolis (Unidade de Área) individuais para a resina acrílica termo ativada exposta ao gel orobase de Extrato Etanólico de Própolis nos períodos de análises.

	0	3	10	14
1	3722,64	2039,13	1593,03	1549,02
2	3318,78	2187,17	1070,97	629,37
3	3699,37	2045,07	1623,21	1424,51
média	3580,26	2090,46	1429,07	1200,97
DP	226,75	83,81	310,49	498,92

Liberação de Própolis (Unidade de Área) individuais para a resina de microondas exposta ao gel orobase de Extrato Etanólico de Própolis nos períodos de análises.

	0	3	10	14
1	3397,03	2130,44	1729,98	2134,01
2	3710,28	2006,68	1671,43	1341,19
3	1820,97	2048,16	1837,91	1424,30
média	2976,09	2061,76	1746,44	1633,17
DP	1012,55	62,99	84,45	435,73

Liberação de Própolis (Unidade de Área) individuais para a resina acrílica termo ativada exposta ao gel orobase de carbopol nos períodos de análises.

	0	3	10	14
1	2835,26	1725,54	1840,22	2033,93

Liberação de Própolis (Unidade de Área) individuais para a resina acrílica de microondas exposta ao gel orobase de carbopol nos períodos de análises.

	0	3	10	14
1	2872,59	1887,15	1722,79	1259,45

ANEXO 2

Análise microbiológica da amostra de própolis utilizada neste trabalho

Valores de Absorbância (660 nm) do crescimento de *Streptococcus mutans* Inbritt 1600 em função da concentração do EEP.

Concentração EEP (ug/mL)	Concentração Inibitória Mínima	Concentração Bactericida Mínima
800	Não houve crescimento visível	Crescimento negativo
400	Não houve crescimento visível	Crescimento negativo
200	0,01	Crescimento positivo
100	0,00	Crescimento positivo
50	0,06	Crescimento positivo
25	0,69	Crescimento positivo
12,5	0,68	Crescimento positivo

ANEXO 3

Análise Cromatográfica da amostra de própolis utilizada neste trabalho.

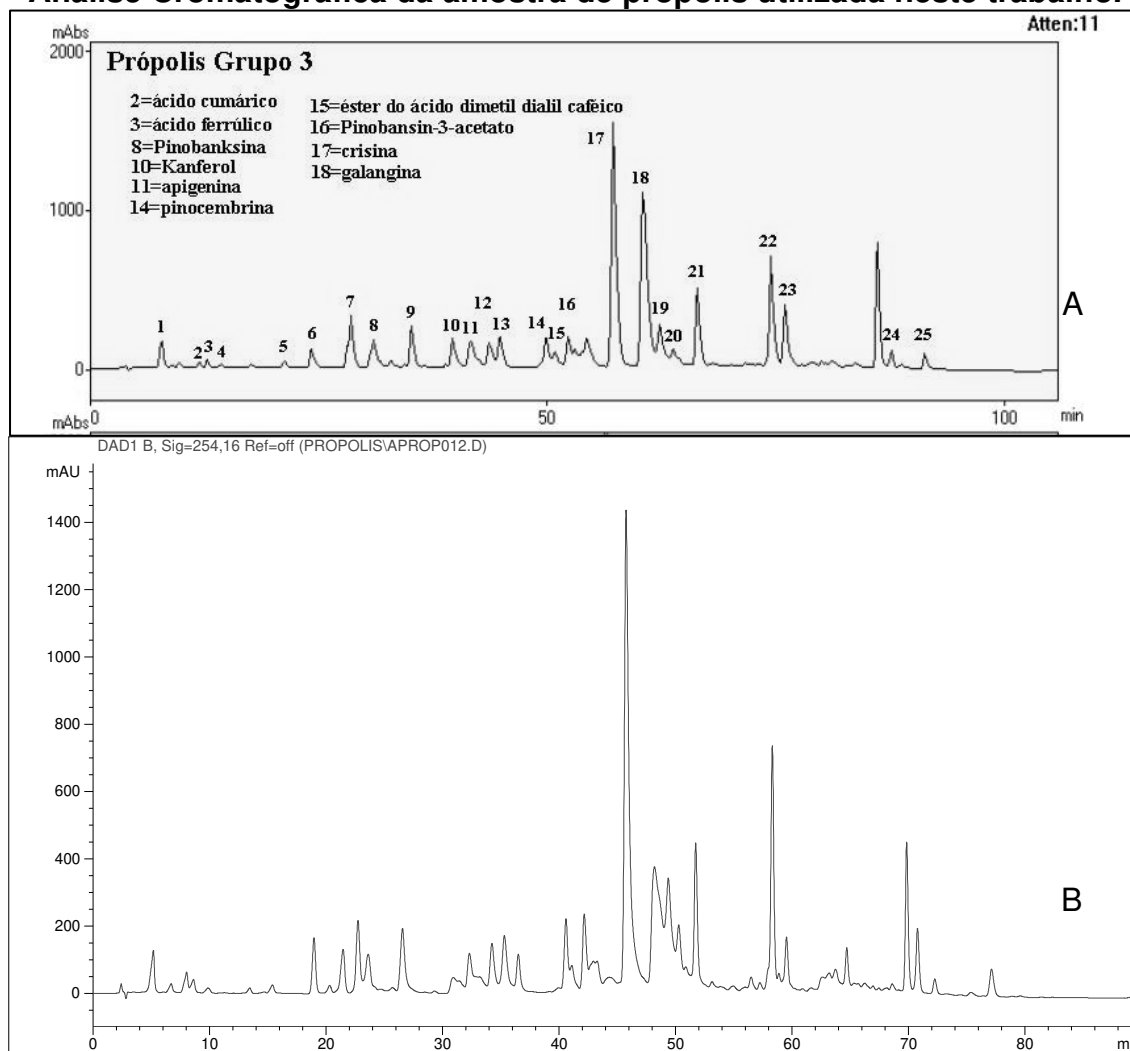


Fig.1 **A**. Perfil químico do Extrato Etanólico de própolis de *Apis mellifera* do grupo tipo 03. **B** Perfil químico do Extrato da própolis de *Apis mellifera* utilizado para realização dos ensaios desta pesquisa.

ANEXO 4

Cromatogramas de estudo preliminar de liberação de compostos do Gel Orobase com EEP

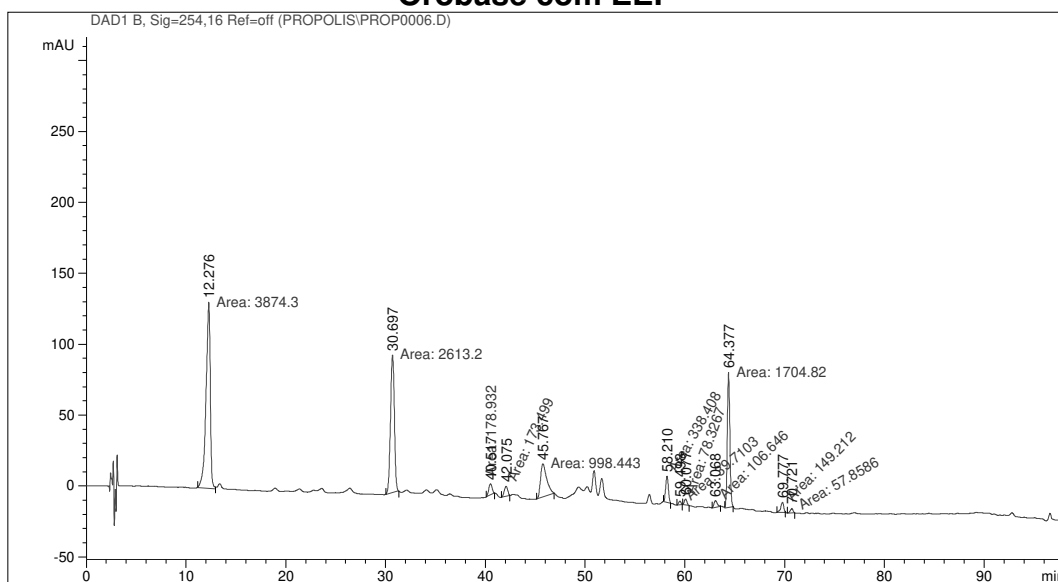


Fig. 1. Cromatograma de amostra representativa de compostos liberados ao final de 03 dias em etanol 80% a partir de corpo de prova em resina acrílica termo ativada.

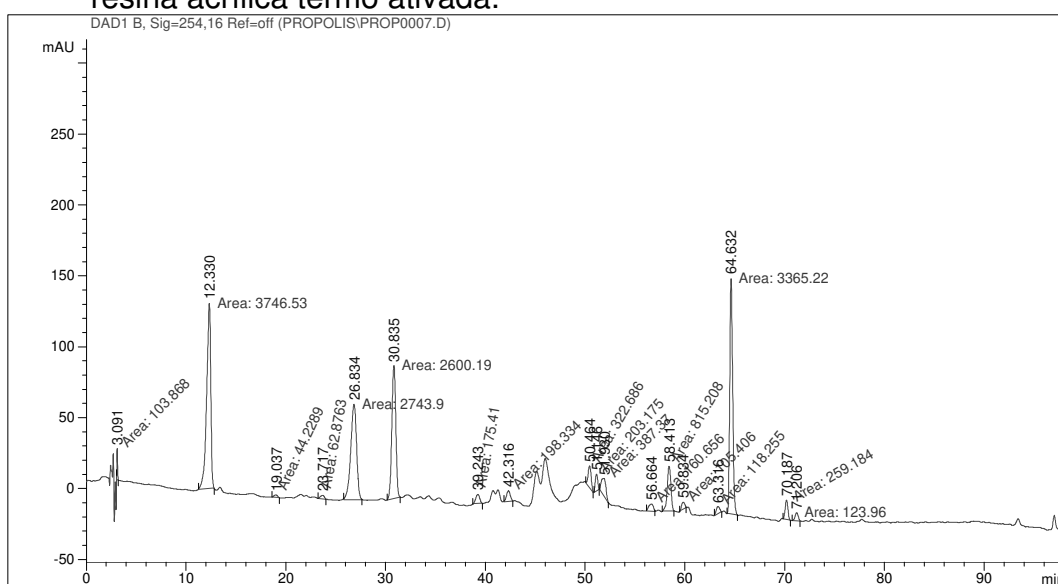


Fig. 2. Cromatograma de amostra representativa de compostos liberados ao final de 03 dias em etanol 80% a partir de corpo de prova em resina acrílica ativada por energia de microondas.

ANEXO 5
Resultados Estatísticos

Coeficientes de variação (CV%), erros (percentuais em relação à média)
e valores de n.

Variáveis	Rugosidade	Angulação	Dureza	Energia
CV máximo (em %)	17,85909	10,46471	3,86430	8,763341
T	2,00	2,0	2,00	2,00
K₁ (%)	5	5	5	5
N₁	52	18	3	13
K₂ (%)	4	2,5	1	2
N₂	80	71	60	77

CORRELAÇÕES (PEARSON)

	RUGOSIDADE	DUREZA	ANGULAÇÃO	ENERGIA
RUGOSIDADE	1,00000			
DUREZA	0,22681 ($< 0,0001$)	1,00000		
ANGULAÇÃO	-0,10714 (0,0322)	-0,05045 (0,3141)	1,00000	
ENERGIA	-0,00642 (0,8981)	0,12345 (0,0135)	-0,20661 ($< 0,0001$)	1,0000

Análise de Variância e teste F para a variável RUGOSIDADE.

EFEITOS	G,L, numerador	G,L, denominador	F	p-valor
AGENTE	4	70	18,71	$< 0,0001$
RESINA	1	70	0,13	0,7242
RESINA*AGENTE	4	70	0,10	0,9829
DIAS	4	280	93,85	$< 0,0001$
AGENTE*DIAS	16	280	8,64	$< 0,0001$
RESINA*DIAS	4	280	0,43	0,7850
RESINA*AGENTE* DIAS	16	280	1,21	0,2570

Análise de Variância e teste F para a variável ANGULAÇÃO.

EFEITOS	G,L, numerador	G,L, denominador	F	p-valor
AGENTE	4	70	0,86	0,4923
RESINA	1	70	0,22	0,6429
RESINA*AGENTE	4	70	1,45	0,2268
DIAS	4	280	9,30	$< 0,0001$
AGENTE*DIAS	16	280	1,55	0,0825
RESINA*DIAS	4	280	1,94	0,1040
RESINA*AGENTE* DIAS	16	280	1,36	0,1614

Análise de Variância e teste F para a variável ENERGIA.

EFEITOS	G.L. numerador	G.L. denominador	F	p-valor
AGENTE	4	70	1,37	0,2543
RESINA	1	70	0,64	0,4254
RESINA*AGENTE	4	70	2,11	0,0885
DIAS	4	280	8,43	< 0,0001
AGENTE*DIAS	16	280	1,20	0,2641
RESINA*DIAS	4	280	1,66	0,1594
RESINA*AGENTE* DIAS	16	280	1,08	0,3719

Análise de Variância e teste F para a variável DUREZA.

EFEITOS	G.L. numerador	G.L. denominador	F	p-valor
AGENTE	4	70	11,56	< 0,0001
RESINA	1	70	24,59	< 0,0001
RESINA*AGENTE	4	70	2,22	0,0756
DIAS	4	280	9,00	< 0,0001
AGENTE*DIAS	16	280	4,11	< 0,0001
RESINA*DIAS	4	280	0,97	0,4293
RESINA*AGENTE* DIAS	16	280	1,59	0,0932