



Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



Emilena Maria Castor Xisto Lima
Cirurgiã-Dentista

**Efeito de agentes químicos de limpeza na rugosidade
superficial de resina acrílica e no acúmulo
de biofilme formado *in situ*.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Título de Mestre em
Clínica Odontológica – Área de Prótese Dental

PIRACICABA
2003



Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



Emilena Maria Castor Xisto Lima
Cirurgiã-Dentista

**Efeito de agentes químicos de limpeza na rugosidade
superficial de resina acrílica e no acúmulo
de biofilme formado *in situ*.**

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Altair Antoninha Del Bel Cury

Co-orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba, da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do Título de Mestre em
Clínica Odontológica – Área de Prótese Dental

PIRACICABA
2003

Ficha Catalográfica

M865a Lima, Emilena Maria Castor Xisto.
Efeito de agentes químicos de limpeza na rugosidade superficial de resina acrílica e no acúmulo de biofilme formado *in situ*. / Emilena Maria Castor Xisto Lima. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003. ix, 83f. : il.

Orientadores: Prof^a Dr^a Altair Antoninha Del Bel Cury, Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Prótese dentária. 2. Resinas acrílicas. I. Del Bel Cury, Altair Antoninha. II. Cury, Jaime Aparecido. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Dedico este trabalho:

A Deus por estar sempre presente em todos os momentos de minha vida.

A minha Rosa, mãe querida, por todo amor, devoção, compreensão e pela confiança e encorajamento em todos os momentos.

Ao meu pai, Carlos Wagner, pelo exemplo de sabedoria e pelo incentivo.

Aos meus irmãos, Carlinhos e Rossini, por fazerem parte da minha história.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Prof^a. Dr^a. Altair A. Del Bel Cury pela oportunidade, incentivo e por guiar os meus primeiros passos nessa longa caminhada.

À Prof^a. Dr^a. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia pela dedicação e exemplo de profissionalismo.

À Viviane Maia, Rosena Rosa, Juliana Moura, Liliana Veiga e Ângela Guimarães pela amizade, companheirismo, aprendizagem e pelos momentos compartilhados.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Reitor Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP nas pessoas do seu diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho e Diretor Associado, Prof. Dr. Osley Paes de Almeida.

Ao Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho, Coordenador Geral dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP.

À Prof^ª. Dr^ª. Brenda Paula Figueiredo A. Gomes, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da FOP-UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury pelo exemplo de sabedoria, pelos ensinamentos transmitidos e por permitir a utilização do laboratório de Bioquímica Oral.

Aos voluntários do estudo *in situ*, Carla, Aline, Carol, Daniela, Paula, Bruno, Renato, Belkys, Patrick, Karina, Denise, Juliana e Ângela pela colaboração para a execução deste trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, em especial ao Prof. Dr. Mauro Antônio de Arruda Nóbilo, Marcelo Ferraz Mesquita e Guilherme Elias Pessanha Henriques, pelos conhecimentos transmitidos durante o curso.

À Técnica do Laboratório de Prótese Parcial Removível, Joselena Casati Lodi, pela amizade, dedicação e atenção dispensadas.

Aos funcionários do Laboratório de Bioquímica Oral, Valdomiro Vieira Filho, Mariza de Jesus Carlos Soares e José Alfredo da Silva, pelo apoio e colaboração na parte experimental deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Simonides Consani por permitir a utilização do rugosímetro e aos funcionários do laboratório de Materiais Dentários, Selma Aparecida Barbosa Segalla e Marcos Blanco Cangiani, pela atenção e dedicação.

À D. Marlene, Karina, Belkys, Adriana, Cíntia, Kira, Léa, Rosana, Daniela, pelo agradável convívio.

Aos professores da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia Armando Prado de Oliveira, Paulo Flores e Luís Carlos Franco pelo incentivo na formação acadêmica.

Aos amigos do curso de pós-graduação, Noéli, Laís, Margareth, Silvia, Juliana, Luís Augusto, Alexandre, Guilherme, Daniela, Alessandra, Cláudio, Ricardo, Rodrigo e Giuliana, pelo convívio durante o curso.

Aos amigos Samira, Andréa, Manoel, Edwin, Joane, Priscila e Fernanda pelos momentos compartilhados.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1. Rugosidade superficial e acúmulo de biofilme.....	6
2.2. Formação e controle de biofilme na prótese	16
3. PROPOSIÇÃO	37
4. MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1. Materiais	38

4.2. Métodos	39
4.2.1. Delineamento experimental	39
4.2.2. Confeção dos corpos de prova	40
4.2.3. Avaliação da rugosidade superficial	45
4.2.4. Avaliação <i>in situ</i> do acúmulo de biofilme	46
4.2.5. Avaliação da rugosidade superficial – final	52
4.2.6. Delineamento estatístico	53
5. RESULTADOS	55
5.1. Avaliação da rugosidade superficial	55
5.2. Avaliação do acúmulo de biofilme <i>in situ</i>	57
6. DISCUSSÃO	59
7. CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	72

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de agentes químicos de limpeza na rugosidade superficial de resina acrílica e no acúmulo de biofilme formado *in situ*. Para tanto, foi realizado um estudo cruzado de três fases de 4 dias, onde treze voluntários utilizaram dispositivos intra-orais contendo 4 espécimes da resina acrílica. Os dispositivos foram imersos em solução de sacarose 20%, oito vezes ao dia, para estimular a formação de biofilme e à noite os aparelhos foram higienizados de acordo com os tratamentos: controle (sem tratamento) – (G1), solução limpadora enzimática (Ortoform) durante 30 minutos (G2) e hipoclorito de sódio 0,5% durante 10 minutos (G3). No quinto dia, o biofilme formado sobre os espécimes foi estimado através da quantia de proteínas álcali-solúveis determinada em espectrofotômetro a 280 nm. A avaliação da rugosidade superficial foi feita na superfície polida dos espécimes antes da fixação nos dispositivos e após cada fase experimental em rugosímetro Surfcoorder SE 1700. Os resultados apresentaram diferença estatística entre os períodos, independente do tratamento aplicado, verificada pela Análise de Variância em esquema de parcelas subdivididas ($p < 0,05$). Na avaliação do acúmulo de biofilme, os resultados mostraram diferença estatística significativa entre o grupo 3 e os grupos 1 e 2, que não diferiram estatisticamente entre si, verificada pelo Teste de Tukey ($p < 0,01$). Os resultados permitiram concluir que a rugosidade superficial da resina acrílica aumentou após a permanência dos espécimes na cavidade bucal e que houve menor acúmulo de biofilme sobre os espécimes de resina acrílica tratados com hipoclorito de sódio 0,5%.

Palavras-chave: Resina acrílica, rugosidade superficial, biofilme, limpadores de prótese.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of denture cleansers on the surface roughness of acrylic resin and on the biofilm accumulation *in situ*. Therefore, this *in situ* crossover study was conducted in 3 phases of 4 days each. In each phase, thirteen volunteers wore palatal appliances containing 4 specimens of acrylic resin. The appliances were immersed in a 20% sucrose solution eight times a day to enhance biofilm formation and the chemical soak-type cleansers were used at night. The treatments were: control (G1), enzymatic solution (Ortoform) for 30 minutes (G2) and 0.5% sodium hypochlorite for 10 minutes (G3). On the 5th day biofilm formed on the specimens was estimated by the amount of proteins alkali-extracted and determined at 280 nm. The surface roughness of polished specimens was measured before the insertion in the appliances and after each experimental period in a roughmeter Surfcomer SE 1700. The results showed significant differences on times but were not influenced by treatments, by Analysis of Variance split-plot ($p < 0.05$). For evaluation of biofilm retention, the results showed significant differences between group 3 in comparison with groups 1 and 2, by Tukey test ($p < 0.05$). The data suggest that the surface roughness of acrylic resin increased after the insertion of specimens in the oral cavity and there was lower amount of biofilm accumulation on the specimens of acrylic resins immersed in 0.5% sodium hypochlorite.

Key-words: Acrylic resin, surface roughness, biofilm, denture cleansers.

1. INTRODUÇÃO

As próteses removíveis têm por objetivo reabilitar o sistema estomatognático, recompondo as características físicas e fisiológicas e mantendo a saúde de estruturas de suporte adjacentes (SESMA *et al.*, 1999).

Para que a reabilitação oral seja efetiva, é necessário que o Cirurgião-Dentista realize criteriosamente o diagnóstico, o planejamento e aplique os conceitos básicos para confecção das próteses. Dentre as fases de confecção, deve-se atentar para o acabamento e polimento adequado, a fim de obter superfícies lisas e homogêneas, na tentativa de reduzir o acúmulo de placa bacteriana e conseqüentemente a ocorrência de doenças na cavidade bucal, além de facilitar o processo de limpeza das próteses. (BUDTZ-JORGENSEN, 1979; QUIRYNEN & BOLLEN, 1995; VERRAN & MARYAN, 1997).

A formação de placa bacteriana na prótese é semelhante à placa bacteriana dental (NEILL, 1968; JORGENSEN *et al.*, 1980; BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, 1981; THEILADE *et al.*, 1983; NIKAWA *et al.*, 1998) e o seu controle é igualmente importante (NEILL, 1968; BUDTZ-JORGENSEN, 1979; THEILADE *et al.*, 1983). Entretanto, um dos maiores desafios do Cirurgião-Dentista é motivar o paciente portador de prótese para uma efetiva higiene oral, visto que esta é considerada fator primordial para o sucesso e longevidade da reabilitação protética (RENNER & BOUCHER, 1987).

A higienização inadequada das próteses favorece o acúmulo de detritos alimentares e placa bacteriana sobre a superfície das mesmas, podendo resultar em alterações

inflamatórias na mucosa, além de produzir odor desagradável, desgaste dos dentes artificiais e da base da prótese (NEILL, 1968).

Os métodos existentes para controle de placa bacteriana e higienização de próteses removíveis são: mecânico através da escovação com dentifício ou sabonete, agitação ultrassônica e químico pela imersão da prótese em limpadores químicos (BUDTZ-JORGENSEN, 1979).

Embora o método mais comumente utilizado para limpeza de próteses seja a escovação com água e sabão ou dentifício (ABELSON, 1985; JAGGER & HARRISON, 1995), existem pessoas que temporariamente ou não, ficam incapacitadas de promover higienização adequada das próteses com este método, principalmente os idosos que apresentam redução da acuidade visual e destreza manual. Nestes casos, a imersão da prótese em limpadores químicos é a melhor indicação (BUDTZ-JORGENSEN, 1979; ODMAN, 1992; GORNITSKY *et al.*, 2002). Além disso, DILLS *et al.*, em 1988 afirmam que estes produtos apresentam atividade antimicrobiana mais efetiva do que a escovação com dentifício.

Os limpadores químicos para próteses são classificados em: peróxidos alcalinos, hipocloritos, ácidos, desinfetantes e enzimas (BUDTZ-JORGENSEN, 1979; NAKAMOTO *et al.*, 1991). Dentre estes, os limpadores à base de peróxidos são os mais usados na higienização de próteses. O produto pode ser apresentado na forma de pó ou tablete e produz uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio quando dissolvido em água. O hipoclorito remove mucina e outros depósitos orgânicos acumulados sobre as próteses sem produzir efeito deletério sobre a resina acrílica (KEMPLER *et al.*, 1982). Os produtos

enzimáticos contém protease e mutanase cuja ação enzimática degrada proteína e polissacarídeos da placa bacteriana aderida à prótese (DENTURE ... , 1983).

Deve ser salientado que os limpadores químicos não devem promover danos às próteses e aos tecidos orais. Portanto, um limpador de prótese ideal deve ser compatível com o material da base e suas propriedades bactericidas e fungicidas são fundamentais para garantir sua eficácia, uma vez que a simples remoção dos resíduos não interrompe o crescimento bacteriano (JAGGER & HARRISON, 1995).

Estudando a ação dos limpadores químicos sobre a resina acrílica, SOUZA JR. (2001), demonstrou que espécimes de resina acrílica imersos em saliva artificial apresentavam uma película, que provavelmente aumentou a rugosidade superficial destes, sendo apenas a solução limpadora de peróxido neutro com enzimas capaz de removê-la.

Entretanto, como estes resultados foram obtidos em condições laboratoriais, a simples transposição para o uso clínico não pode ser realizada porque há outros fatores intervenientes, dentre eles: saliva, proteínas salivares, pH, higiene oral e auto-limpeza (NIKAWA *et al.*, 1999). Assim, frente aos poucos relatos que associam a ação de agentes limpadores químicos sobre o acúmulo de biofilme e alteração superficial de resina acrílica e diante da correlação observada entre a quantidade de biofilme e a concentração de proteína (CURY *et al.*, 1994), foi propósito deste trabalho avaliar o efeito de agentes químicos de limpeza na rugosidade superficial de resina acrílica e no acúmulo de biofilme formado *in situ*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura deste trabalho abrange duas partes: a primeira, relacionada a rugosidade superficial dos materiais odontológicos e sua influência no acúmulo de biofilme e a segunda, relacionada a formação de biofilme na prótese e os métodos utilizados para seu controle.

2.1 Rugosidade superficial e acúmulo de biofilme

LEITÃO & HEGDAHL, em 1981, realizaram um estudo para examinar o fenômeno de filtragem e seus efeitos sobre a expressão numérica da rugosidade. Geralmente, uma superfície é considerada rugosa quando apresenta protuberâncias e reentrâncias, com grande amplitude e curto comprimento de onda. Quando se calcula a rugosidade, o aparelho utilizado deve ser ajustado para excluir as oscilações de ondas longas e usar somente os desvios de ondas curtas sobrepondo a linha curva. Deve ser feita uma distinção entre rugosidade e curvatura. A rugosidade depende de vários fatores, alguns deles relacionados com o próprio material, sua lisura, porosidade, etc. e outros referem-se ao equipamento. O valor de “cut-off” deve ser sempre indicado pois seu aumento implica em um valor maior de rugosidade. Os autores observaram que a maioria dos equipamentos possibilita a filtração das oscilações longas e permite ajustes nos valores de “cut-off” de acordo com a necessidade de cada caso.

ULUSOY *et al.*, em 1986, compararam a efetividade de diferentes técnicas de polimento. Para isso, foram confeccionadas amostras de resina acrílica termo-polimerizável Quick Rodex (B.D.P. Industry Istanbul, Turkey) e autopolimerizável Vertex (Dentimex, Zeist, Holand) segundo as instruções do fabricante. Dez amostras de cada material foram submetidas a oito técnicas de acabamento e polimento e o grupo controle (não tratado). As técnicas utilizaram pedra abrasiva, discos abrasivos, cone de feltro com pedra-pomes e escova macia com bicarbonato, durante 15 segundos cada, com sequências diferentes e de maneira incompleta. A rugosidade superficial dos espécimes foi analisada e registrada em aparelhos com um sistema eletrônico. Quando a técnica de acabamento e polimento foi realizada incompleta, sem que todos materiais de polimento fossem utilizados e com sequências diferentes, observou-se maiores valores de rugosidade superficial. A melhor superfície de acabamento e polimento foi obtida quando todos os materiais de polimento foram usados progressivamente. Concluiu-se que nenhum passo deve ser negligenciado durante o procedimento de acabamento e polimento, pois a rugosidade da resina acrílica seria afetada.

QUIRYNEN *et al.*, em 1990, verificaram a relação entre as características de superfície (rugosidade e energia livre) e o acúmulo de placa bacteriana. Para isso, duas tiras, uma feita de fluoroetilenopropileno (FEP) e outra de acetato de celulose (AC) - (polímeros com energia livre de superfície 20 e 58 erg/cm², respectivamente) foram posicionadas na superfície vestibular do incisivo central de 16 voluntários. Metade da superfície de cada tira foi mantida lisa (Ra 0,1 µm) e a outra metade rugosa (Ra 2,2 µm).

O acúmulo de placa foi medido no 3º e 6º dia planimetricamente através de dispositivos coloridos. Observou-se no 3º dia, uma diferença significativa no acúmulo de placa bacteriana comparando a superfície rugosa com a lisa. Entretanto, no 6º dia, menor quantidade de placa foi registrada na superfície lisa do FEP quando comparada com a superfície lisa do AC. Além disso, não houve diferença entre as superfícies rugosas. Constatou-se que a influência da rugosidade superficial sobre o acúmulo e composição da placa bacteriana é superior à energia livre de superfície.

ZANGHELLINI *et al.*, em 1993, estudaram uma metodologia para avaliar quantitativamente a formação de depósito *in vivo* sobre 7 materiais diferentes após 1 ano e correlacionaram o grau de formação de depósito com 2 parâmetros objetivos: microrugosidade e microdureza. Espécimes de cada material (Poliestireno, poliamida-6, polimetilpentano, polivinil cloreto, policarbonato, politetrafluroetileno e polimetilmetacrilato) foram preparados e posicionados do lado direito e esquerdo na superfície externa das próteses. A rugosidade superficial e microdureza Vickers foram medidas antes e após o período de uso das próteses. Nove voluntários utilizaram as próteses durante um ano e após este período, as amostras foram avaliadas para formação de depósitos por três observadores em um estereomicroscópio (Wild Type 327616, Wild, Heerbrug, Switzerland) com aumento de 20 vezes para depósitos visíveis. A escala de deposição variou de 0 a 5, onde o 0 não apresentou depósitos visíveis e o 5 indicou uma superfície completamente coberta pelo depósito. Os resultados mostraram maiores valores de deposição para o poliestireno e poliamida-6 e o valor mais baixo foi observado para o

polimetilmetacrilato. Todos materiais demonstraram um aumento da rugosidade média e máxima após o período de 1 ano *in vivo* e as mudanças nos valores de microdureza foram quase imperceptíveis. Constatou-se que este modelo de estudo permitiu quantificar a formação do depósito sobre vários materiais estabelecendo uma comparação entre eles e que a real formação do depósito nos materiais dentários é provavelmente influenciada pela geometria, área de superfície e outros fatores.

QUIRYNEN & BOLLEN, em 1995, realizaram uma revisão da literatura sobre a influência da rugosidade superficial e da energia livre de superfície no processo de adesão bacteriana. Segundo os autores, a rugosidade superficial promove a formação e estagnação (maturação) da placa, enquanto a energia livre de superfície é coletora de placa adicional, ligando esta mais fortemente e promovendo a seleção de colônias bacterianas específicas. Embora exista uma interação evidente entre a rugosidade superficial e a energia livre de superfície, a influência da primeira é superior no mecanismo de formação de placa bacteriana. Os autores ressaltaram ainda que nas superfícies irregulares, as bactérias uma vez fixadas, podem sobreviver mais tempo porque estarão protegidas das forças naturais de remoção e das medidas de higiene oral. Além do mais, a rugosidade de superfície aumenta a área disponível para adesão bacteriana potencializando-a em até três vezes. Os autores concluíram que todos os esforços devem ser feitos para obtenção de superfícies lisas e bem acabadas minimizando a formação de placa e conseqüentemente, reduzindo a ocorrência de doenças na cavidade bucal.

ZANGHELLINI *et al.* (1995), avaliaram a formação do depósito *in vivo* sobre 12 materiais dentários após um ano a fim de obter informações sobre o mecanismo de formação do depósito sobre os materiais poliméricos na cavidade bucal. Os materiais foram organizados em sequência e os espécimes (três do lado direito e três do lado esquerdo) foram fixados nos flancos das próteses superior e inferior usadas por 11 e 20 voluntários em duas pesquisas durante um ano. Os parâmetros dos materiais avaliados foram: rugosidade superficial, dureza superficial e absorção de água. As próteses foram fotografadas antes e após o período de 1 ano e cada amostra foi analisada por três examinadores em um estereomicroscópio. Os resultados mostraram que a absorção de água é muito diferente entre os materiais considerados e que esta influencia a formação do depósito. Nove dos doze materiais avaliados apresentaram maiores valores de dureza Vickers após 1 ano, já os valores de rugosidade, em geral, mostraram uma diminuição estatisticamente significativa. O material Vivosit apresentou maior valor de depósito enquanto o Vivodent, material à base de polimetilmetacrilato, apresentou menor valor. Além disso, a quantidade de depósito formada sobre as próteses superiores foi superior aquela encontrada nas próteses inferiores. Concluíram que a formação do depósito é dependente do local de formação, visto que esta foi maior na região posterior e também do voluntário, já que alguns apresentaram formação de depósito grosseiro e outros moderado.

BOLLEN *et al.*, em 1997, reconhecendo que a rugosidade das superfícies duras intra-orais pode influenciar na retenção de placa bacteriana, realizaram uma revisão de literatura, avaliando a rugosidade superficial inicial de diversos materiais odontológicos, bem como as mudanças ocorridas em suas superfícies como consequência das diferentes

modalidades de tratamento executadas. Relataram que estudos *in vivo* sugeriram um limiar de rugosidade superficial para retenção bacteriana ($Ra = 0,2 \mu m$), abaixo do qual poderia ser esperado redução no acúmulo bacteriano. O aumento da rugosidade superficial acima deste limiar, entretanto, resultaria num aumento simultâneo de acúmulo de placa bacteriana. A rugosidade superficial dos diferentes materiais dentários e o efeito dos diferentes tipos de tratamento das superfícies (polimento, escovação, condensação, glaze ou acabamento) foram analisados e comparados com o limiar estabelecido de rugosidade inicial de $0,2 \mu m$. Baseados nesta revisão, os autores encontraram uma extensa variedade de valores de rugosidade nas superfícies dos materiais usados na cavidade bucal, verificando que o efeito dos diversos tratamentos superficiais usados é dependente do material. Esses achados indicam a necessidade de um tratamento específico para cada material a fim de se obter e manter sua superfície mais lisa possível.

VERRAN & MARYAN, em 1997, compararam a retenção de *Candida albicans* nas superfícies lisas e rugosas da resina acrílica e silicone a fim de determinar o efeito da rugosidade superficial na infecção e higienização das próteses. Suspensões de *Candida albicans* foram incubadas com amostras de resina acrílica e silicone durante uma hora a $24^{\circ}C$. Após a lavagem, as células aderidas às superfícies foram coradas e examinadas em microscópio de luz fluorescente. Não houve diferença significativa no número de células aderidas às superfícies lisas dos dois materiais, entretanto, foi observado maior número de células aderidas às superfícies rugosas do que lisas (silicone > resina acrílica). Os autores concluíram que o aumento na rugosidade superficial facilitou a retenção microbiana nas

superfícies da resina acrílica e silicone e que uma superfície lisa é desejável para facilitar a higienização das próteses.

TAYLOR *et al.* (1998), compararam a retenção de bactérias e fungos sobre as superfícies polidas das resinas acrílicas e de ligas de cromo-cobalto jateadas com partículas de óxido de alumínio de 50 e 250 μm e eletropolidas em tanque eletrolítico. Para isso, foram preparadas amostras de 0,2 x 1 cm^2 de resina acrílica autopolimerizável Pala-press (Kulzer and Co., Hamburg, Germany) e amostras de 0,6 x 1 cm^2 da liga cromo-cobalto. A rugosidade superficial desses materiais foi mensurada em um aparelho (modelo 401, Mitutoyo, Tokyo, Japan). Suspensões de células *Candida albicans*, *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus oralis* com diferentes formas e tamanhos foram aplicadas sobre as amostras e incubadas por 1 hora a 37°C. As células aderidas às superfícies foram observadas em microscópio epifluorescente e registradas para cada amostra. Constatou-se que o aumento na rugosidade superficial facilitou a retenção de fungos tanto na resina acrílica como na liga metálica, entretanto, a retenção bacteriana ocorreu nos microdefeitos e mesmo nas superfícies polidas. Além disso, ressaltaram que as técnicas de polimento laboratorial não apresentam padronização e uma superfície considerada lisa visualmente, pode ser microretentiva e favorecer a colonização microbiana.

BRAUN, em 1999, avaliou o efeito do polimento químico sobre a liberação de monômero residual, dureza superficial, resistência transversa e textura de superfície de resinas auto e termopolimerizáveis, comparando-o com o polimento mecânico. Para isso,

foram confeccionadas amostras em resina termopolimerizável Clássico e autopolimerizável JET- Clássico divididas em 4 grupos: G1 - resina autopolimerizável com polimento mecânico, G2 - resina autopolimerizável com polimento químico, G3 - resina termopolimerizável com polimento mecânico, G4 - resina termopolimerizável com polimento químico. As avaliações foram realizadas nos períodos de 1, 2, 8 e 32 dias. Os resultados mostraram que o polimento químico aumentou a quantidade de monômero residual, reduziu os valores de dureza superficial e não interferiu na resistência transversa das duas resinas. Além disso, verificou-se que o polimento químico alterou a camada superficial das resinas promovendo um aspecto ondulado.

MENDONÇA, em 1999, avaliou a rugosidade superficial *in vitro* e o acúmulo de placa bacteriana *in situ*, em superfícies cerâmicas submetidas a diferentes sistemas de acabamento e polimento. Espécimes cilindros cerâmicos foram confeccionados e divididos nos grupos: 1) sistema Kota, 2) pasta diamantada, 3) sistema Enhance, 4) sistema Viking, 5) ponta diamantada FF, 6) “glaze” final e 7) ponta diamantada 2135. A rugosidade superficial foi mensurada em rugosímetro e uma média aritmética foi obtida para três leituras realizadas em cada corpo de prova. Para avaliação do acúmulo de placa bacteriana *in situ*, nove voluntários utilizaram dispositivos intra-orais contendo sete amostras correspondente aos grupos experimentais por três dias na semana, totalizando sete semanas. Os aparelhos foram imersos em solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia, para estimular a formação de placa bacteriana e após cada fase experimental, esta foi extraída e quantificada em espectrofotômetro. Os resultados obtidos mostraram valores menores de rugosidade para os grupos 1, 2 e 4, sendo que nenhum procedimento foi capaz de promover

a lisura superficial obtida com o “glaze” final. Além disso, os sistemas de acabamento e polimento não demonstraram diferenças estatísticas significantes em relação ao acúmulo de placa bacteriana.

As propriedades de superfície dos materiais odontológicos, dentre elas, a rugosidade superficial, é de grande relevância clínica pois pode afetar o acúmulo de placa bacteriana e o manchamento superficial. Diante desse aspecto, ZISSIS *et al.*, em 2000, investigaram a rugosidade superficial de 20 materiais utilizados para confecção de próteses. Para tanto, foram confeccionados 115 espécimes de materiais de base e reembasamento de próteses, divididos em 23 grupos e armazenados durante um mês em água destilada a 37°C antes do teste. A rugosidade superficial desses materiais foi mensurada em um aparelho SurfTest SV 400 (Mitutoyo, Tokyo, Japão) e uma média foi obtida para cinco leituras realizadas em cada espécime. Os resultados indicaram uma variação na rugosidade média (Ra) dos materiais avaliados de 0,7 a 7,6 µm. Os materiais de base de próteses mostraram valores de Ra entre 3,4 a 7,6 µm com diferenças estatísticas significantes entre eles, sendo a resina SR3/60 Plus menos rugosa. Constatou-se que todos materiais apresentaram valores de rugosidade superficial acima de 0,7 µm, indicando a possibilidade de acúmulo de placa bacteriana, já que ultrapassou o limiar de 0,2 µm no qual a aderência bacteriana não é esperada.

LEITE JR., em 2001, avaliou o acúmulo de placa bacteriana *in situ* e a rugosidade superficial *in vitro* em resinas compostas modificadas por poliácidos submetidas a

diferentes procedimentos de acabamento e polimento. Foram utilizados neste estudo, duas resinas compostas modificadas por poliácidos (Compoglass F – Vivadent e Dyract AP – Dentsply) e quatro sistemas para acabamento e polimento (Tira Matriz, discos Sof-Lex, pontas Viking e Enhance). Para avaliação do acúmulo de placa bacteriana *in situ*, dez voluntários utilizaram dispositivos intra-orais contendo quatro corpos de prova correspondente aos grupos experimentais. Eles utilizaram o dispositivo por três dias na semana, durante oito semanas, gotejando solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia. No quarto dia, a placa formada sobre cada corpo de prova foi extraída em NaOH 1,0M e quantificada em espectrofotômetro. A rugosidade superficial, após os procedimentos de acabamento e polimento, foi mensurada em rugosímetro, considerando a média aritmética de três leituras realizadas em cada corpo de prova. Concluiu-se que o Dyract AP apresentou maior acúmulo de placa bacteriana comparado ao Compoglass F e que dentre os materiais de acabamento e polimento avaliados, a Tira Matriz e os discos Sof-lex, produziram superfícies mais lisas.

SOUZA JR., em 2001, avaliou a dureza e rugosidade superficial de uma resina acrílica polimerizada por energia de microondas e duas ligas metálicas quando submetidas à agentes químicos de limpeza. Quarenta e oito amostras de resina Onda-Cryl foram confeccionadas contendo uma barra metálica em uma das faces. Estas amostras foram mantidas em saliva artificial a 37°C e imersas nas respectivas soluções de limpeza (Polident - peróxido neutro com enzimas e limpador de manipulação - perborato de sódio) bem como no controle (água) durante 5 minutos, 3 vezes ao dia. As avaliações da dureza e rugosidade

foram realizadas imediatamente após o polimento das amostras e após 1, 15 e 30 dias. Constatou-se que o agente químico de limpeza Polident diminuiu a dureza da resina acrílica e não interferiu na rugosidade desta e das ligas metálicas estudadas. Entretanto, o limpador de manipulação contribuiu para o aumento da rugosidade em ambos materiais.

2.2 Formação e controle de biofilme na prótese

NEILL (1968) estudando a formação de placa bacteriana em próteses, descreveu o processo em três fases: na primeira fase, a mucina e os detritos alimentares se acumulam na superfície da resina acrílica, formando um depósito que oferece pouca resistência à remoção através dos procedimentos rotineiros de higiene oral, sendo uma etapa reversível. Na segunda fase, o depósito ganha aderência à superfície da resina acrílica, formando um complexo similar a película adquirida observada em dentes naturais sendo chamado de “película da dentadura”. As bactérias orais aderem ao depósito, resultando em acúmulo de placa, a qual se desenvolve e se matura, podendo ser invadida por sais de cálcio liberados pela saliva. Na terceira e última fase, a calcificação progride até a matriz orgânica tornar-se completamente solidificada. O cálculo está formado, constituindo-se da mistura de fosfato de cálcio e matriz orgânica. A sua localização se dá preferencialmente em áreas adjacentes às aberturas dos ductos salivares das glândulas parótida e submandibular. O autor também fez algumas considerações à respeito dos materiais utilizados para higiene das próteses, dentre eles, hipocloritos, peróxidos alcalinos e ácidos minerais. No entanto, ressaltou que a escovação adequada das próteses é um método seguro e eficaz para o controle de placa bacteriana.

NICHOLSON *et al.*, em 1968, avaliaram a capacidade de limpeza de um aparelho ultrassom e várias soluções limpadoras de próteses. Para tanto, coletaram 96 próteses superior e inferior e distribuíram em três grupos de acordo com a maior ou menor quantidade de depósitos e manchas. Em seguida, estas foram imersas em soluções limpadoras durante dez minutos. As soluções utilizadas foram: uma parte de hipoclorito de sódio 5% diluída em três partes de água, limpador comercial, limpador experimental, aparelho ultrassom com limpador experimental, aparelho ultrassom com água e aparelho ultrassom com solução de hipoclorito de sódio. A análise visual foi feita antes e após o procedimento de limpeza de todas as próteses e um método fotográfico especial foi utilizado para avaliação detalhada de 24 próteses selecionadas como as mais representativas. Os resultados mostraram pouca diferença entre a limpeza obtida com o aparelho ultrassom e solução de hipoclorito e somente o hipoclorito. Entretanto, houve grande diferença quando se comparou a associação do ultrassom e água e o ultrassom com agentes de limpeza. Os autores enfatizaram a necessidade de escovação das próteses após o uso das soluções limpadoras para completa remoção dos depósitos, visto que somente os agentes de limpeza não conseguiram removê-los. Concluiu-se que a limpeza das próteses está relacionada a ação química das soluções limpadoras e não a atividade vibratória dos aparelhos. Além disso, o uso do hipoclorito associado a escovação mostrou-se o meio de limpeza mais efetivo.

ENGELHARDT, em 1974, desenvolveu um método para avaliar a possível degradação da resina ou de seus constituintes pelos microrganismos. Os organismos selecionados foram cultivados em um meio livre de carbono e a resina avaliada foi

adicionada. A multiplicação dos organismos foi interpretada como evidência da sua habilidade em atacar a resina utilizando o carbono como nutriente essencial. Observou-se que certas colônias de *pseudomonas*, *aerobacter aerogenes* e *candida lipolytica* foram mais ativas nesse aspecto e que os plastificantes usados nos materiais reembasadores resilientes foram mais facilmente atacados pelos microrganismos. Sugere-se que a especificação para as características das resinas acrílicas inclua referências com relação a resistência ao ataque microbiano.

CONNOR *et al.* (1977) avaliaram o acúmulo de placa bacteriana e a eficiência de um produto para higienização contendo enzimas proteolíticas e outro, sem enzimas. Para tanto, doze pacientes usaram próteses totais superiores com seis discos de liga metálica localizados nas superfícies polidas destas. Após o período de 48 horas de acúmulo de placa, os discos foram removidos e distribuídos aleatoriamente entre os grupos: imersão em água destilada, imersão em limpador enzimático durante 15 minutos e 8 horas e imersão em produto comercial durante 15 minutos e 8 horas. Em seguida, as amostras foram preparadas para análise em microscópio eletrônico de varredura. Os autores constataram que não houve diferença estatística significativa entre os dois produtos após 15 minutos de imersão, porém esta tornou-se significativa após 8 horas, onde o produto enzimático foi mais eficiente na remoção de placa do que aquele que não continha enzimas.

Ainda em relação aos produtos enzimáticos, BUDTZ-JORGENSEN & KELSTRUP, em 1977, estudaram a eficiência das enzimas (dextranase, mutanase e protease) na remoção de placa bacteriana aderida às próteses. Cem pacientes usuários de

próteses apresentando estomatite protética participaram deste estudo durante o período de 14 dias. Como agentes de limpeza foram utilizados tabletes contendo enzimas na forma pura e misturadas, um limpador comercial (Steradent) e como controle, tabletes que não continham os princípios ativos. A análise fotográfica da mucosa do palato e das próteses foi realizada antes e após o tratamento. Constatou-se que os tabletes contendo a mistura de enzimas foram mais efetivos do que os tabletes com enzima pura, tabletes placebos e o produto comercial. O efeito benéfico da mistura de enzimas incluiu redução significativa da quantidade de placa bacteriana aderida às próteses além de melhora na condição clínica dos tecidos subjacentes.

BUDTZ-JORGENSEN (1979), em sua revisão de literatura, reportou sobre os materiais e métodos utilizados para limpeza de próteses e controle da placa bacteriana. O método mecânico inclui a escovação, sendo esta mais comumente utilizada e quando realizada adequadamente remove manchas artificiais e placa bacteriana da resina acrílica e a agitação ultra-sônica, que tem se mostrado eficaz apenas com a adição de soluções desinfetantes. O método químico é uma alternativa importante para higiene das próteses principalmente entre pacientes geriátricos e incapacitados. Existe um grande número de produtos disponíveis, podendo ser classificados em peróxidos alcalinos, hipocloritos, ácidos orgânicos e inorgânicos, desinfetantes e enzimas. A maioria destes limpadores não apresenta efeitos adversos sobre a resina acrílica. Entretanto, o período de imersão ainda é questionado, visto que alguns destes produtos não se mostraram efetivos durante períodos curtos de imersão. Ressaltou ainda que durante as etapas de confecção das próteses, deve-se

atentar para obtenção de superfícies lisas e homogêneas com objetivo de minimizar o acúmulo de placa bacteriana e facilitar o processo de limpeza.

JORGENSEN *et al.* (1980) estudaram a microbiota e a estrutura da placa formada sobre as próteses. A placa bacteriana foi coletada da superfície interna de próteses totais de 8 pacientes que apresentavam mucosa palatina clinicamente saudável. As amostras foram cultivadas e o número de microrganismos viáveis foi contado. A microbiota da placa era constituída predominantemente de cocos e bacilos e algumas bactérias filamentosas embebidas em uma matriz intermicrobiana. Em média foram identificados 54% de cocos gram positivos, 9% de cocos gram negativos e 36% de bacilos gram positivos. Os autores observaram uma camada eletrodensa semelhante à película adquirida interposta entre a resina acrílica e os microrganismos. Os resultados indicaram grande semelhança entre a placa da prótese e a placa dental.

BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, em 1981, desenvolveram um método para acompanhar o desenvolvimento, estrutura, microbiota e quantificar a placa formada sobre as próteses. Para observar o crescimento da placa bacteriana *in vivo*, uma fita adesiva de 1 cm² (Mystic self-stick Tape, Boreden Inc., N.Y., USA), jateada com areia e tratada com clorofórmio foi colada na superfície interna de 17 próteses totais. Após o período de 1 semana de acúmulo de placa, as fitas foram removidas e preparadas para análise microbiológica e microscopia eletrônica. O número de microrganismos viáveis por cm² variou de 39.500 a 480.000.000, sendo que os fungos não atingiam 1% desse total na maioria dos pacientes. O exame de microscopia eletrônica revelou a presença de cocos

gram positivos na maioria das fitas e cocos gram negativos foram detectados apenas em áreas isoladas. Também pôde ser observado a presença de uma substância semelhante a película interposta entre a placa da prótese e a fita. Concluiu-se que o método da fita oferece informações confiáveis sobre a quantidade de placa microbiana acumulada sobre as próteses, no entanto, a contagem de microrganismos não fornece dados sobre a composição da placa.

KEMPLER *et al.*, em 1982, avaliaram a eficácia e concentração mais adequada de hipoclorito de sódio na remoção de depósitos orgânicos acumulados sobre próteses removíveis. As próteses foram submetidas aos seguintes tratamentos: Polident, Efferdent, Denalan, hipoclorito de sódio em 3 concentrações diferentes e água. A eficácia dos limpadores foi avaliada pelo método fotográfico seguindo uma escala de valores. Os resultados mostraram que as soluções de hipoclorito de sódio removeram mucina e outros depósitos orgânicos acumulados sobre as próteses sem produzir efeito deletério sobre a resina acrílica, entretanto, provocaram descoloração nos conectores metálicos e produziram odor e sabor desagradável.

RUSSELL & ELAHI, em 1982, conduziram um estudo comparando a eficiência de limpeza de sete produtos comercialmente disponíveis para imersão: Denalan, Mersene, Efferdent antigo e novo, Polident e Kleenite antigo e novo. Cento e dez voluntários portadores de próteses totais superiores foram selecionados para este estudo e se abstiveram de higiene das próteses durante 24 horas antes do início do experimento. As próteses foram imersas em solução reveladora de placa durante 30 segundos e os valores foram registrados

seguindo uma escala de 0 (nenhuma placa) a 4 (muita placa). Em seguida, os limpadores foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos e usados de acordo com as instruções do fabricante. O procedimento padrão consistiu na imersão das próteses em soluções efervescentes durante 10 minutos, lavagem em água corrente e novo registro dos escores. Observou-se uma grande variação na remoção de manchas e placa, sendo que os produtos Kleenite novo e Mersene foram os mais efetivos. Assim, os autores concluíram que somente a imersão das próteses nos limpadores durante 10 minutos não foi efetiva na remoção da placa, recomendaram um período maior de imersão associado a escovação a fim de obter uma limpeza mais efetiva das próteses.

BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, em 1983, avaliaram a prevenção do acúmulo de placa bacteriana por uma protease (alcalase). Eles analisaram o efeito clínico de diferentes concentrações da enzima e os procedimentos de limpeza através da identificação e quantificação de placa bacteriana nas próteses totais de 17 indivíduos. Após o tratamento, as próteses foram coradas com uma solução reveladora de placa e fotografadas de maneira padronizada. Observou-se redução significativa nos escores de placa bacteriana com o aumento da concentração da enzima, indicando ser este produto eficaz para limpeza de próteses principalmente quando associados à escovação.

O Conselho de Materiais Dentários, em 1983, preconizou o uso dos limpadores de próteses de acordo com as características e propriedades dos produtos disponíveis. O conhecimento dos constituintes dos limpadores de próteses, sua eficácia, efeitos colaterais e segurança são informações indispensáveis para o paciente. O hipoclorito solubiliza a

matéria orgânica ou matriz sobre a qual há formação de tártaro e é eficaz na remoção de manchas provavelmente causadas pelo sangue ou detritos alimentares. Embora períodos longos de imersão sejam capazes de remover depósitos grosseiros, podem prejudicar os materiais usados nas próteses pois o hipoclorito é corrosivo para o metal e causa clareamento da resina acrílica. Os peróxidos são uma combinação de perborato de sódio ou percarbonato, que liberam oxigênio e um detergente alcalino como o fosfato trissódico. Eles estão disponíveis na forma de pós ou tabletes e produzem solução alcalina de peróxido de hidrogênio quando dissolvidos em água. Os agentes oxidantes são incorporados devido à sua capacidade de limpeza e remoção de manchas. Existe a possibilidade desses limpadores clarearem os materiais, especialmente aqueles que possuem grande quantidade de plastificantes. Os limpadores enzimáticos geralmente contêm protease e mutanase cuja ação enzimática degrada as proteínas e polissacarídeos da placa bacteriana aderida à prótese. Quando usados apropriadamente e com as devidas precauções, a maioria dos limpadores não apresenta efeitos adversos sobre a liga metálica e a resina acrílica das próteses, sendo esta menos afetada.

THEILADE *et al.* (1983), conduziram um estudo clínico com o objetivo de determinar a microbiota predominante na placa das próteses. Para tanto, coletaram placa microbiana das próteses totais superiores de oito voluntários que apresentavam a mucosa do palato saudável. Os resultados indicaram 41% de estreptococos, variando entre *mutans*, *salivarius*, *mitior e sanguis*; 6% de estafilococos aureos e 33% de bacilos gram positivos, incluindo os gêneros *Actinomyces e Lactobacilos*. Dentre as bactérias gram negativas, a *Veillonella parvula* foi a mais comum. Fungos foram encontrados em apenas 5 voluntários,

constituindo menos de 1% do número total de microrganismos viáveis. Os autores concluíram que a composição microbiana da placa aderida à prótese é altamente variável, e em sua grande parte, similar à placa dental. Afirmaram que esta similaridade indica que a placa pode ser removida ou prevenida pelos meios mecânicos ou químicos.

RUDD *et al.* (1984), avaliaram a ação bactericida do hipoclorito de sódio 5,25% (Clorox, The Clorox Co., Oakland, Califórnia) para esterilização das próteses totais e determinação do tempo necessário para esse efeito. Doze próteses totais superiores foram confeccionadas com dentes posteriores de porcelana e anteriores de resina, seguindo a técnica padrão. Cada prótese foi recortada ao meio produzindo 24 amostras idênticas. Estas amostras foram imersas durante 2 minutos em um meio de cultura contendo uma suspensão de células previamente preparadas. Em seguida, foram imersas em Clorox durante 1 minuto e todos procedimentos foram repetidos com 3 e 5 minutos de imersão. Observou-se que após o período de 1 e 3 minutos houve crescimento dos microrganismos enquanto após 5 minutos de imersão, as próteses apresentaram-se estéreis. Os autores observaram que a imersão em Clorox durante 5 minutos é um método rápido, seguro e eficaz para esterilização das próteses.

TARBET *et al.* (1984), avaliaram a eficácia dos métodos químico e mecânico na remoção de placa bacteriana acumulada sobre todas as superfícies das próteses. Os produtos avaliados foram: soluções efervescentes Efferdent (Warner–Lambert Co., N.J.), Polident (Block Drug Co., N.J.) e escova com dentífrício pouco abrasivo Complete (Richardson_Vicks Inc., Wilton , Conn.). Setenta e cinco pacientes usuários de próteses

totais foram divididos aleatoriamente em três grupos e instruídos a usar os produtos de acordo com as recomendações do fabricante por um período de 12 semanas. Consultas semanais foram feitas para corar as próteses com uma solução reveladora e mensurar o nível de placa bacteriana acumulada. Os resultados indicaram que o método mecânico (escovação) foi mais efetivo na remoção da placa bacteriana e que todos produtos removeram mais placa das superfícies polidas das próteses.

ABELSON (1985) relatou em sua revisão de literatura a classificação dos produtos para higienização de próteses em: pós e pastas abrasivas, produtos químicos para imersão, ácidos, enzimas, agentes antibacterianos e aparelhos ultra-sônicos. O método mais comumente utilizado é a escovação com dentífrício abrasivo, entretanto, requer motivação e destreza para ser eficiente. Esta técnica pode ser combinada com a imersão em produtos químicos, sendo os peróxidos contendo enzimas os mais indicados para próteses com estruturas metálicas. Caso a prótese seja totalmente de resina, os produtos mais efetivos são as soluções à base de hipoclorito, no entanto, estas apresentam odor e sabor desagradáveis. O autor concluiu que as metodologias devem ser padronizadas e novos produtos avaliados *in vivo*, já que ainda não existe o produto ideal para limpeza de próteses. Além disso, ressaltou a importância da orientação de higiene oral aos pacientes a fim de manter a saúde bucal.

MINAGI *et al.*, em 1987, relataram um método de avaliação objetiva dos agentes de limpeza de próteses. Três próteses totais superior e inferior usadas por mais de 2 anos foram divididas em amostras de 5 x 5 mm e distribuídas aleatoriamente em 4 grupos

correspondentes a um grupo controle (água destilada) e três agentes de limpeza utilizados (Pika, Polident e Efferdent) e imersas em 150 ml da solução por 6 horas a 20°C. Após a imersão, as amostras foram lavadas e permaneceram numa solução reveladora de placa durante 60 segundos. O acúmulo de placa sobre a amostra foi calculado através de análise gráfica do computador e uma avaliação da atividade antifúngica dos limpadores foi realizada. De acordo com os resultados, os agentes de limpeza Pika e Polident mostraram-se mais efetivos do que o Efferdent. Além disso, foi possível estabelecer uma relação entre o tipo de placa e o agente de limpeza de próteses adequado para sua remoção.

MORRIS *et al.* (1987), realizaram um estudo para investigar o início da colonização bacteriana em resina acrílica. Em adição, foi empregada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para acompanhar o desenvolvimento da formação da placa. Seis voluntários dentados usaram aparelhos intra-orais contendo fitas adesivas coladas nas superfícies internas durante o período de três dias, nos quais o voluntário não realizou a higiene do mesmo. Os resultados indicaram que a aderência bacteriana aconteceu de forma rápida nas primeiras 8 horas de uso e que os estreptococos foram os maiores constituintes da placa bacteriana. A análise feita em MEV demonstrou que a adesão de microrganismos ocorreu inicialmente em ranhuras e depressões existentes na resina acrílica até atingir toda área adjacente.

DILLS *et al.*, em 1988, compararam a capacidade de remoção de placa bacteriana de dois métodos de higienização comumente utilizados, avaliando os seguintes tratamentos:

Escova para prótese Curv-Clean (Brimms Inc. N.Y.) com o dentífrico Dentu-Cream (Block Drug Co., N. J.), solução efervescente Efferdent (Warner-Lambert Co., N.J.) e a associação dos dois métodos comparados com o grupo controle (sem tratamento). Trinta pacientes usuários de próteses removíveis foram selecionados para participar de dois experimentos clínicos seguindo o mesmo protocolo. Antes do período experimental, a higiene das próteses foi suspensa durante o período de 48 ou 72 horas e em seguida, foi feita distribuição aleatória entre os grupos de acordo com o tratamento. Realizou-se análise microbiológica para determinar o nível de colonização bacteriana das próteses. Os resultados mostraram que tanto a imersão em produto químico quanto o tratamento associado removeram significativamente mais microrganismos do que a escovação isolada. Os autores concluíram que é necessária a associação dos métodos químico e mecânico para higienização completa das próteses.

Segundo NAKAMOTO *et al.*, em 1991, os limpadores químicos para próteses, podem ser classificados em: peróxidos alcalinos, hipocloritos alcalinos, ácidos, desinfetantes e enzimas. Neste mesmo ano, compararam a eficácia de limpeza de quatro produtos com enzima (Pika, Liodent, Dr. Health, Polident) e um sem enzima (Polident – tradicional). As soluções limpadoras foram avaliadas quanto a capacidade fungicida e de remoção do fungo *Candida Albicans* aderidos à resina acrílica. Para verificar a capacidade fungicida dos limpadores de próteses, uma suspensão de *Candida Albicans* foi preparada e adicionada a cada solução limpadora em tubos de ensaio. Estes foram armazenados a 37°C por 120 minutos e em seguida, a solução foi diluída e inoculada em meio de cultura. Após

24 horas, foi feita a contagem do número de colônias. Para o teste de remoção do fungo, os discos de resina acrílica confeccionados (10 x 10 x 0,75 mm) foram cobertos com a suspensão de *Candida Albicans* e armazenados a 37°C por 90 minutos. Em seguida, os discos foram lavados em solução tampão de fosfato, imersos em soluções limpadoras por 60 minutos e lavados novamente. As células fúngicas aderidas à resina acrílica foram fixadas com formaldeído e contadas em microscópio. Os autores concluíram que a capacidade fungicida depende principalmente do peróxido alcalino e não das enzimas e que todos as soluções limpadoras foram eficientes na remoção da *Candida Albicans*.

Visto que um grande número de usuários de próteses utiliza produtos caseiros como agentes de limpeza das mesmas, BASSON *et al.*, em 1992, realizaram um trabalho avaliando a capacidade de desinfecção de alguns destes produtos. Seis voluntários dentados utilizaram dispositivos de resina acrílica com duas amostras removíveis e foram distribuídos em seis grupos de acordo com o agente de limpeza designado (solução de 0,04% hipoclorito + 0,66 % NaCl, solução de 0,012 % hipoclorito + 0,19% NaCl, solução de 20% NaCl, vinagre não diluído, vinagre diluído 50% e água (controle). Após o período de sete dias as amostras foram removidas, sendo que uma foi usada para análise em estereomicroscópio e a outra para a contagem de microrganismos viáveis. Todos produtos reduziram significativamente o número de bactérias quando comparados com a água, entretanto, as soluções de hipoclorito de sódio foram mais efetivas.

ODMAN, em 1992, avaliou a eficácia de um limpador de prótese contendo enzima por meio de análise microbiológica. Para isso, treze pacientes realizaram a higiene das próteses apenas com o produto químico de imersão Enzydent durante o período de três semanas e em seguida foram instruídos a utilizarem o Enzydent associado a escovação por mais três semanas. Concluiu-se que o tratamento combinado foi mais efetivo para limpeza das próteses.

CURY *et al.*, em 1994, desenvolveram um modelo *in situ* para avaliar a eficácia de substâncias anti-placa e anti-cálculo. Para o estudo anti-placa, dispositivos palatinos intra-orais de acrílico foram confeccionados contendo amostras (5 mm x 5 mm) de esmalte dental humano posicionadas a um milímetro abaixo da superfície da resina acrílica. Para o estudo anti-tártaro, dispositivos linguais foram confeccionados contendo duas amostras (3 mm x 3 mm) de esmalte e posicionadas na superfície lateral dos aparelhos. O delineamento experimental foi do tipo cruzado e cego e o estudo foi desenvolvido em duas fases de 4 e 15 dias respectivamente, para o estudo anti-placa e anti-tártaro. Em cada fase, metade dos voluntários utilizou dentifício com substâncias anti-placa e anti-cálculo e a outra metade utilizou placebo, em seguida, foi feito o cruzamento. Após cada fase experimental, a quantidade de placa formada sobre o esmalte foi extraída com NaOH e analisadas em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 280 nm. Para a avaliação do cálculo, a matéria orgânica foi removida com NaOH-NaOCl e a análise foi realizada. Os resultados mostraram diferenças estatísticas significantes na formação de placa bacteriana e cálculo quando dentifícios contendo substâncias anti-placa e anti-tártaro foram utilizados.

Assim, concluiu-se que os modelos desenvolvidos foram adequados para avaliação de substâncias anti-placa e anti-tártaro.

CHAU *et al.*, em 1995, avaliaram a habilidade de três soluções desinfetantes em penetrar e desinfetar o interior da resina acrílica. Placas retangulares de 75 x 25 x 3 mm foram confeccionadas com três materiais: resina termo-polimerizável Lucitone 199 (Dentsply, York Division, York, Pa.), resina ortodôntica (The L.D. Caulk Co. Division of Dentsply International Inc., Milford, Del.) e resina autopolimerizável (L.D. Caulk Co.). As placas foram polidas em um dos lados simulando o polimento de aparelhos de resina acrílica e o outro lado não foi polido, semelhante à superfície de ajuste dos aparelhos. As amostras de resina acrílica foram imersas em um meio de cultura com quatro espécies de bactérias durante 24 horas. Em seguida, estas amostras foram lavadas cuidadosamente em solução salina estéril e imersas em três soluções desinfetantes: Biocide (Biotrol International, Louisville, Colo.), Alcide LD (Alcide Corp., Norwalk, Conn.) e Hipoclorito de sódio (James Austin Co., Mars, Pa) de acordo com as instruções do fabricante. A solução salina estéril foi utilizada como controle. De acordo com a análise microbiológica, os resultados indicaram que a contaminação bacteriana ocorre tanto na superfície como no interior do aparelho de resina acrílica. Os autores concluíram que o método de escolha para desinfecção das próteses é a imersão em hipoclorito de sódio a 0,525% por 10 minutos, já que este mostrou-se mais efetivo que os demais produtos.

JAGGER & HARRISON, em 1995, avaliaram cem pacientes através de um questionário com cinco perguntas relacionadas a higiene das próteses. Os resultados

mostraram que o método mais comumente utilizado para limpeza das próteses é a escovação com dentífrico. Apesar disso, quando realizada incorretamente e com pastas abrasivas pode causar danos aos materiais de base das próteses e limitação na remoção de manchas grosseiras, além de requerer destreza manual. Somente 35% dos pacientes utilizaram o método químico, incluindo a imersão em produtos como: hipocloritos, peróxidos alcalinos e ácidos. Relataram que este método apresenta vantagens sendo simples de usar, entretanto, se não usado de acordo com as instruções do fabricante, pode causar deterioração na base das próteses descolorindo a resina acrílica ou corroendo o metal. A imersão das próteses em hipoclorito é recomendada devido às suas propriedades de limpeza, visto que ele é efetivo na dissolução da placa, inibe a formação de cálculo atuando sobre a matriz da placa, remove manchas e apresenta características bactericidas e fungicidas, no entanto, quando usados por períodos prolongados podem causar corrosão e oxidação no metal. Já os limpadores peróxido alcalinos que contém enzimas proteolíticas podem ser usados tanto na resina acrílica quanto no metal sem restrições.

WEBB *et al.* (1995), verificaram a eficácia do hipoclorito de sódio como agente esterilizante de próteses, visto ser este produto rotineiramente utilizado nos procedimentos de desinfecção em hospitais. Para avaliar a adesão das espécies de *Candida* à resina acrílica, foram confeccionadas amostras cúbicas de 10 x 10 x 2 mm de polimetilmetacrilato, lavadas em solução tampão de fosfato e uma suspensão de 0,5 ml de célula *Candida* foi adicionada. Após o período de duas horas de incubação à temperatura ambiente, as amostras foram lavadas novamente para remover as células não aderidas e submetidas a cintilação líquida. Em seguida, foi feita contagem do número de células

aderidas. Os autores observaram graus variados de adesão das espécies de *Candida* às superfícies acrílicas. O hipoclorito de sódio foi capaz de reduzir a adesão das colônias de *Candida albicans*, evidenciando sua ação antifúngica quando usado para imersão das próteses em casos de estomatite protética.

KENG & LIM, em 1996, conduziram um estudo para determinar a distribuição da placa bacteriana na prótese e avaliar a efetividade de uma solução de perborato. Nesse estudo, quarenta e duas próteses totais foram coradas com uma solução reveladora, a placa bacteriana foi quantificada utilizando a escala de Quigley-Hein modificada e o método fotográfico foi usado para determinar a distribuição da placa nas próteses. Estas foram fotografadas antes da limpeza e após terem sido imersas em solução limpadora Polident (Block Drug) durante 20 minutos. Concluiu-se que somente a imersão em limpadores químicos não é completamente efetiva para o controle de placa bacteriana espessa, visto que os resultados mostraram apenas pequena redução quando se comparou os escores de placa pós e pré-limpeza. Os níveis de placa são maiores nas superfícies de ajuste das próteses do que nas superfícies polidas e dentes provavelmente devido a estagnação, acúmulo de saliva e ausência de contato com a língua nestas regiões.

Próteses totais foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) por KULAK *et al.* (1997) para avaliar a remoção de contaminantes da superfície. A região palatina das próteses foi dividida em 8 fragmentos, sendo 6 deles tratados com produtos químicos (Corega, Dentipur, Fittydent, hipoclorito de sódio, Savlon, Ipanol), um fragmento higienizado com escova dental e dentifício e o outro permaneceu sem tratamento,

designado como controle. Os espécimes foram preparados para exame em MEV e fotografados com aumento de 500 vezes. As fotografias foram analisadas por três observadores e comparadas com um fragmento de prótese limpo. Os resultados indicaram que a imersão em hipoclorito de sódio e Savlon removeram mais contaminantes da superfície do que os outros produtos avaliados. Além disso, os autores atribuíram a pouca eficiência da escovação às irregularidades da superfície da resina acrílica que dificultaram a remoção de microrganismos.

NIKAWA *et al.*, em 1998, realizaram uma revisão de literatura considerando a história da placa bacteriana da prótese e a presença de *Candida* na boca. Segundo os autores, a presença de *Candida* na composição microbiana da placa aderida à prótese pode causar além de candidíase oral, cáries, cáries de raiz e periodontite nos dentes pilares. Entretanto, esta relação ainda não está bem definida. A deglutição ou aspiração contínua dos microrganismos presentes na placa da prótese expõe os pacientes, principalmente os imunodeprimidos ou idosos debilitados, ao risco de infecções. Além disso, os autores sugerem que o termo “placa sobre a prótese” seja utilizado em detrimento ao termo “placa prótese” pois a microbiota e sua patogenicidade assemelham-se a placa formada sobre a superfície dos dentes, também chamada de placa dental.

ZALKIND *et al.* (1998) examinaram o acúmulo de *Streptococcus mutans* sobre compósitos fotopolimerizáveis e amálgama. Foram confeccionados 54 espécimes de compósitos, de acordo com as instruções do fabricante, 18 espécimes de amálgama e 9 de esmalte de dentes extraídos com as seguintes dimensões: 5 mm de diâmetro e 3 mm de

altura. Em seguida, foram divididos em 9 grupos de acordo com os procedimentos de acabamento e polimentos realizados. Três amostras foram colocadas em suspensão bacteriana cultivada em meio líquido suplementado com sacarose a 2%, sendo substituído diariamente, durante quatro dias. No final do experimento, as amostras foram removidas e 1ml de NaOH 0,5M foi adicionado. A concentração de bactérias foi determinada medindo-se a turbidez através de espectrofotometria. Constatou-se que as amostras de amálgama acumularam menos bactérias quando comparadas com os outros grupos. Além disso, não houve diferença estatística significativa no acúmulo de placa bacteriana entre os diferentes compósitos submetidos aos procedimentos de acabamento e polimento comparados com os compósitos polimerizados contra a Tira Matriz.

NIKAWA *et al.*, em 1999, realizaram uma revisão de literatura analisando as vantagens e desvantagens dos métodos utilizados para avaliar os limpadores de próteses. Observou-se que os resultados variam dependendo do método usado, diferindo principalmente entre os estudos realizados *in vivo* e *in vitro*. A eficácia clínica dos limpadores químicos não corresponde a avaliação feita *in vitro*. Baseados nesta revisão, os autores enfatizaram a necessidade de padronização dos materiais e métodos usados para examinar a eficácia do agente de limpeza bem como a possibilidade de quantificar além de qualificar a placa microbiana.

SESMA *et al.* (1999) avaliaram a eficiência de três métodos caseiros de higienização de próteses por meio de análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Dez pacientes portadores de próteses removíveis foram orientados para higienizar

as próteses com escova de dente e dentífrico durante uma semana. Na segunda semana, este método foi associado à imersão em um produto químico efervescente à base de peróxido alcalino – Limpador Efervescente (Farmácia de Manipulação Fórmula e Ação, São Paulo, Brasil) e na última semana, associaram a escovação com aplicação de um algodão embebido em clorexidina 2% apenas na parte interna da prótese. Após cada período, foram obtidas amostras de 5 mm² da região interna das selas das próteses para análise em MEV. Constatou-se que o uso de escova e dentífrico não foi eficiente na remoção de placa bacteriana e que apesar da associação com o produto efervescente ter melhorado as condições de higiene das próteses, a combinação do método mecânico com a clorexidina foi mais eficaz na eliminação dos microrganismos.

Segundo NELSON & COX (2000), uma ampla variedade de biomoléculas absorvem luz em comprimentos de onda característicos. Os aminoácidos constituintes das proteínas, como o triptofano e a tirosina, absorvem luz no comprimento de onda de 280 nm. A medida da absorção de luz por um espectrofotômetro é usada para detectar e identificar moléculas e medir sua concentração nas soluções. A fração de luz incidente absorvida por uma solução num dado comprimento de onda está relacionada a espessura da camada absorvente e a concentração da espécie absorvente. O logaritmo da relação entre a intensidade da luz incidente e a intensidade da luz transmitida é chamada absorbância.

GORNITSKY *et al.* (2002), compararam a eficácia de três limpadores de próteses (Denture Brite, Polident e Efferdent) na redução do número de microrganismos das

próteses de pacientes geriátricos hospitalizados. A análise microbiológica e avaliação do acúmulo de placa, manchas e detritos alimentares foram realizadas antes e após o período de três semanas de uso dos limpadores. A redução significativa do número de microrganismos, placa, manchas e detritos observada neste estudo, sugere que o uso das soluções limpadoras é um método adequado para higienização de próteses, principalmente em casos de pacientes geriátricos hospitalizados.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de agentes químicos de limpeza na rugosidade superficial de resina acrílica e no acúmulo de biofilme formado *in situ*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para o desenvolvimento deste estudo, foram utilizados uma resina acrílica polimerizada por energia de microondas Onda-Cryl (Clássico, Artigos Odontológicos Ltda.) e dois agentes químicos para limpeza de próteses: Pó Limpador de Aparelhos Ortodônticos e Próteses - ORTOFORM (Fórmula e Ação, São Paulo, SP) e hipoclorito de sódio 0,5% (Proderma, Piracicaba, SP), conforme apresentado na Tabela 1 e Figura 1 e 2.

Tabela 1: Materiais utilizados, marca comercial, composição e fabricantes.

Material	Composição básica	Fabricante
Onda-Cryl	Metil metacrilato/ Poli-metil metacrilato	Clássico, Artigos Odontológicos, Ltda.
Ortoform	Perborato de sódio e enzima proteolítica	Fórmula e Ação, São Paulo, SP
Hipoclorito de sódio 0,5%	Hipoclorito de sódio	Proderma, Piracicaba, SP



Figura 1 - Resina acrílica Onda-Cryl utilizada no estudo.



Figura 2 - Agentes químicos para limpeza de próteses.

4.2. Métodos

4.2.1. Delineamento experimental

Este estudo cruzado *in situ*, realizado em três fases, consistiu na avaliação da rugosidade superficial e quantificação de biofilme formado sobre a superfície da resina acrílica submetida à ação de limpadores químicos de próteses.

Com esse objetivo o fator em estudo foi o tipo de agente químico de limpeza, sendo dois níveis experimentais: Pó Limpador de Aparelhos Ortodônticos e Próteses – (ORTOFORM) e hipoclorito de sódio 0,5% e um nível controle: sem tratamento. As variáveis respostas foram rugosidade superficial, em Ra, e acúmulo de biofilme, em absorbância, verificados em 156 corpos de prova, medindo 5 x 5 x 2 mm, com delineamento em blocos casualizados.

4.2.2. Confeção dos corpos de prova

4.2.2.1. Confeção da matriz

Para a confecção dos corpos de prova, primeiramente foram obtidas matrizes de silicone (consistência densa) polimerizado por reação de adição (3M ExpressTM STD, 3M Dental Products, U. S. A.). Para tanto, este material foi proporcionado e manipulado de acordo com as instruções do fabricante e inserido em moldes de matriz acrílica com as dimensões 65 x 5 x 2 mm. Após a polimerização do mesmo, o excesso de material foi removido com auxílio de uma espátula, obtendo-se assim as matrizes de silicone (FIG. 3).

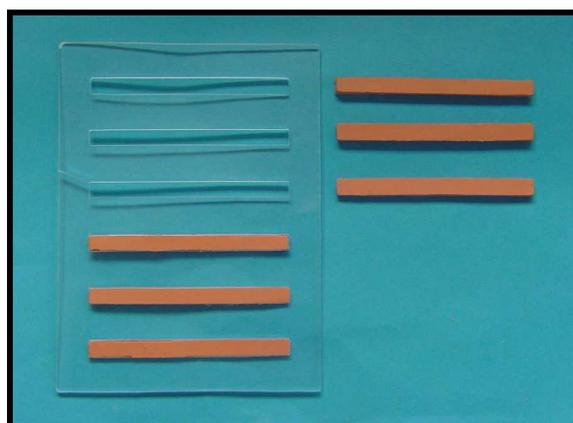


Figura 3 - Matriz acrílica e matrizes de silicone.

4.2.2.2. Inclusão das matrizes

As matrizes de silicone foram incluídas em gesso em mufla plástica reforçada com fibra de vidro. A parte inferior da mufla foi isolada com vaselina sólida (Chemco, Ind. e Com. Ltda. Campinas, SP) e preenchida com gesso pedra tipo III (Herodent, Vigodent S. A.) na proporção de 100 g/30 ml de água, espatulado em um aparelho à vácuo (Polidental,

Ind. e Com. Ltda., Brasil) por 40 segundos. Após a presa do gesso, sua superfície foi planificada com lixa de óxido de alumínio de granulação 320 e a vaselina sólida foi aplicada com pincel macio. Três matrizes de silicone foram posicionadas sobre a superfície do gesso (FIG. 4).



Figura 4 - Matrizes de silicone posicionadas sobre a superfície do gesso.

Em seguida, a parte superior da mufla foi adaptada à inferior e preenchida com nova porção de gesso pedra tipo III. A mufla foi fechada e levada à prensa hidráulica (DELTA), até que a pressão fosse estabilizada em 0,5 tonelada. Os parafusos foram colocados em posição e o conjunto mantido até a presa final do gesso. Posteriormente, a mufla foi aberta para retirada das matrizes e a limpeza realizada com escova macia e detergente neutro para remoção da vaselina sólida. Desta forma obteve-se os moldes para a confecção das amostras em resina acrílica (FIG. 5).



Figura 5 - Moldes obtidos em gesso pedra.

4.2.2.3. Preenchimento dos moldes

Os moldes de gesso foram revestidos com uma fina camada de isolante para resina acrílica (Al-Cote, Dentsply Ltda.). Em seguida, a massa de resina acrílica (Onda-Cryl, Clássico Artigos Odontológicos Ltda.) proporcionada e manipulada de acordo com as recomendações do fabricante, foi inserida em sua fase plástica com auxílio de uma espátula no molde de gesso, até seu preenchimento total (FIG. 6).

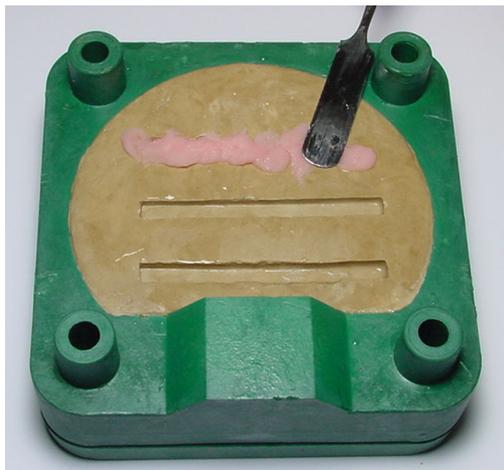


Figura 6 – Preenchimento do molde com resina acrílica.

A mufla foi fechada e o conjunto novamente levado à prensa hidráulica (DELTA), sob pressão de 1,25 toneladas, até que as partes da mufla se encostassem e a pressão fosse estabilizada. A seguir, os parafusos foram colocados em posição, o conjunto foi retirado da prensa e após 30 minutos de descanso, de acordo com as instruções do fabricante, a mufla foi levada ao forno de microondas (Continental AW-42 de 900W), com prato giratório, a 40% de potência durante 3 minutos, pausa durante 4 minutos (período de descanso) e a 90% de potência durante 3 minutos. Após a polimerização, a mufla foi deixada durante 2 horas sobre a bancada para resfriamento; suas partes foram separadas e as amostras em resina acrílica removidas (FIG. 7).

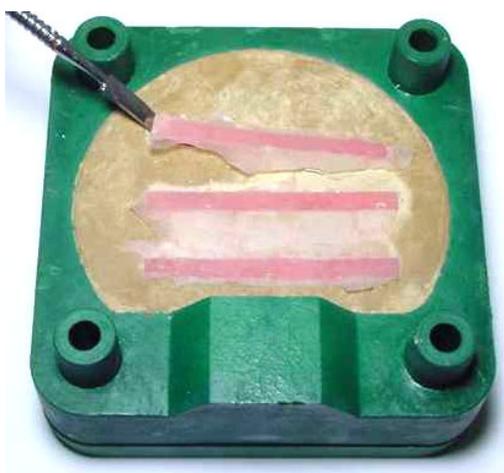


Figura 7 - Remoção das amostras em resina acrílica após a polimerização.

4.2.2.4. Acabamento e Polimento

O acabamento das amostras em resina acrílica medindo 65 x 5 x 2 mm foi realizado com lixa de óxido de alumínio com granulação 320, 400 e 600 sob refrigeração em politriz APL-4 (AROTEC, AROTEC Indústria e Comércio S/A, Cotia, SP, Brasil), durante 15

segundos, simulando o acabamento das próteses (FIG. 8). O polimento foi realizado em torno de bancada com escova preta n.º 29 com pasta de pedra-pomes (Herjos, Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água (FIG. 9) e em seguida, roda de pano e branco de espanha (Herjos, Vigodent, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) também durante 15 segundos (ULSOY *et al.*, 1986, BRAUN, 1999).



Figura 8 - Acabamento das amostras em resina acrílica realizado em politriz APL-4 (AROTEC).



Figura 9 - Polimento em torno de bancada com escova preta n.º 29 com pasta de pedra-pomes e água.

Entre todas as etapas de acabamento e polimento, as amostras foram limpas com detergente neutro em aparelho ultra-som (THORNTON, modelo T7, Inpec Eletrônica Ltda., SP, Brasil) e enxaguadas com água deionizada. Estas amostras foram mantidas em água durante 48 horas a 37°C para liberação do monômero e em seguida, recortadas em cortadeira metalográfica (ISOMETTH, BUEHLER, Lake Bluff, Illinois, USA) para obtenção de 156 espécimes de resina acrílica medindo 5 x 5 x 2 mm.

4.2.3. Avaliação da rugosidade superficial

Cada espécime foi fixado com cera utilidade (EPOXIGLASS, Epoxiglass Ind. Com. de Produtos Químicos Ltda., Diadema, SP, Brasil) em uma base de resina acrílica previamente numerada e submetido à leitura no rugosímetro SURFCORDER SE 1700 (KOSAKA, Jp) (FIG. 10 e 11), para determinação da rugosidade inicial (T0). A leitura considerada foi a média aritmética (Ra) entre os picos e vales percorridos pela ponta ativa do aparelho, onde o percurso de medição foi de 2,4 mm, comprimento de onda limite 0,8 mm e velocidade de 0,5 mm/s. Foram realizadas três leituras na superfície polida de cada corpo de prova, sendo duas nas extremidades e uma no centro do corpo de prova. As médias dos valores obtidos foram anotadas, tabuladas e submetidas à análise estatística.



Figura 10 – Rugosímetro Surfscorder SE 1700 utilizado no estudo.

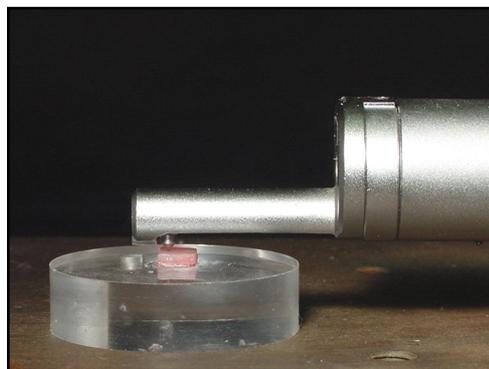


Figura 11 – Leitura da rugosidade superficial.

4.2.4. Avaliação *in situ* do acúmulo de biofilme

4.2.4.1. Seleção dos voluntários

Para o estudo *in situ* foram selecionados treze voluntários, de ambos os sexos, com idade entre 20 e 30 anos, alunos de graduação e pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, com condições de saúde bucal e sistêmica favoráveis e ausência de necessidade de tratamento odontológico. Serviram como critérios para exclusão da amostra, voluntárias em período de gestação, fumantes, indivíduos que estivessem fazendo uso de qualquer substância antimicrobiana (antibióticos, enxaguatórios, etc.) e que não pudessem colaborar com os termos da pesquisa.

O projeto desta pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa - CEP - da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP e recebeu aprovação, sem nenhum adendo por parte da comissão (ANEXO 1), cumprindo integralmente o disposto na Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, contendo todas informações relacionadas à pesquisa, seu objetivo, metodologia, critérios de seleção e exclusão dos voluntários, análise crítica dos riscos e formas de ressarcimento e de acordo com este, possuíam liberdade para desistir da pesquisa a qualquer momento (ANEXO 2).

Os voluntários seguiram as instruções fornecidas pela pesquisadora (ANEXO 3), comparecendo ao laboratório de Prótese Parcial Removível nos horários e datas estabelecidas. Uma semana antes do início do experimento, os voluntários receberam escovas dentais do tipo Reach macia (Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP) e dentifrícios fluoretados padronizados da marca Sorriso Fresh (São Bernardo do Campo,

SP), ambos fornecidos pelo responsável da pesquisa e utilizaram durante todo período do experimento. Os dispositivos não foram escovados com o dentífrico na superfície que contém os corpos de prova, mas apenas naquela em contato com o palato.

4.2.4.2. Confeção do dispositivo intra-oral e fixação dos corpos de prova

Para cada voluntário, foi obtido o modelo em gesso pedra do arco superior, através da moldagem anatômica com alginato (Jeltrat Plus, Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil). Por meio desse modelo, foi confeccionado um dispositivo intra-oral palatino em resina acrílica autopolimerizável (JET, Clássico, Artigos Odontológicos Ltda., São Paulo, SP, Brasil), polido, especialmente em suas margens e arestas, a fim de evitar irritações e acúmulo de placa bacteriana e, conseqüentemente, alterações nos tecidos gengivais.

Quatro espécimes de 5 x 5 x 2 mm foram fixados com cera pegajosa (Horus, Herpo Produtos Dentários, Petrópolis, RJ, Brasil) nas cavidades previamente preparadas em cada aparelho (Fig. 12), de modo que ficassem posicionados a um milímetro da superfície da resina para facilitar a retenção de biofilme. A distribuição dos espécimes nos dispositivos foi feita de forma aleatória por sorteio.

4.2.4.3. Instalação dos dispositivos intra-orais

Os dispositivos foram instalados nos respectivos voluntários após a verificação da adaptação intra-oral e realização dos ajustes necessários (Fig. 13). Os voluntários foram instruídos a utilizar os aparelhos durante 24 horas para simular o uso direto da prótese removendo o dispositivo apenas durante as refeições, mantendo-os em recipiente fechado e úmido (fornecido pelo pesquisador).

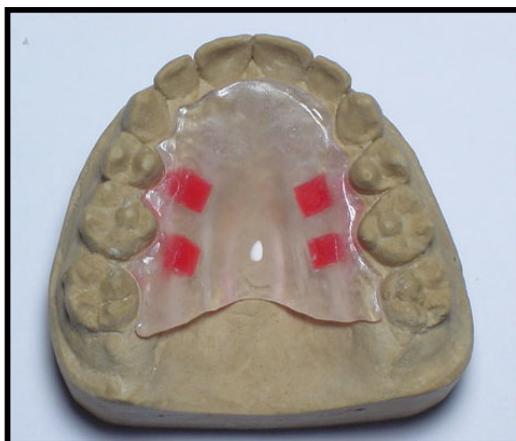


Figura 12 - Dispositivo intra-oral com cera utilidade para preparação das cavidades.



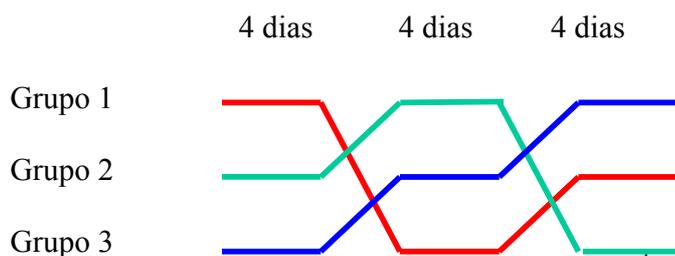
Figura 13 - Dispositivo intra-oral palatino com os espécimes instalado na cavidade bucal.

4.2.4.4. Ciclo de formação do biofilme

Cada voluntário utilizou o dispositivo intra-oral durante 4 dias (CURY *et al.*, 1994). Neste período, os voluntários imergiram os aparelhos em solução de sacarose a 20% durante cinco minutos, oito vezes ao dia nos horários (8:00, 9:30, 11:00, 14:00, 15:30,

17:00, 19:00, 21:00), para estimular a formação de biofilme. À noite, eles removiam o aparelho para higienização de acordo com o limpador designado para aquele grupo, sendo a distribuição dos voluntários para cada grupo feita por sorteio, assim como a fixação dos espécimes.

O grupo 1 não utilizou agente de limpeza, sendo o grupo controle. No grupo 2, os dispositivos foram imersos em solução limpadora enzimática – ORTOFORM (Fórmula e Ação, São Paulo, SP, Brasil) durante 30 minutos, seguindo as instruções do fabricante. No grupo 3, os dispositivos foram imersos em hipoclorito de sódio 0,5% (Proderma, Piracicaba-SP, Brasil) durante 10 minutos.



Por se tratar de um estudo cruzado, todos os voluntários passaram por todos os tratamentos em diferentes fases. Todas as amostras fixadas num mesmo aparelho e ao mesmo tempo pertenciam a um mesmo grupo.

4.2.4.5 Quantificação do biofilme

Após o período de 4 dias, os dispositivos foram recortados com discos diamantados e encerados com cera sete (EPOXIGLASS, Epoxiglass Ind. Com. de Produtos Químicos Ltda., Diadema, SP, Brasil) (FIG. 14 e 15), deixando apenas a superfície superior do corpo de prova exposta (FIG. 16).



Figura 14 - Dispositivo intra-oral sendo recortado com disco diamantado.



Figura 15 – Enceramento do dispositivo intra-oral recortado.



Figura 16 – Biofilme formado sobre a superfície superior do corpo de prova.

Para remoção do biofilme formado sobre a superfície de resina acrílica e posterior quantificação, os espécimes foram colocados em tubos de ensaio de 5 cm de comprimento, previamente identificados, contendo 1,5 ml de solução de hidróxido de sódio (NaOH) – 1,0 M e lacrados com parafilme (FIG. 17). Em seguida, estes tubos foram agitados

mecanicamente em agitador de tubos de alta frequência (MARCONI, Piracicaba, SP, Brasil) por 10 segundos e posteriormente, permaneceram em agitação durante três horas em Mesa Agitadora TE – 140 (TECNAL, Tecnal Equipamentos para Laboratório Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) (FIG. 18). Após uma hora e meia e três horas, os tubos foram novamente agitados individualmente em alta velocidade.



Figura 17 - Corpo de prova em tubo de ensaio.



Figura 18 - Tubos de ensaio em agitação em Mesa Agitadora TE – 140.

Encerrada a agitação, o corpo de prova foi removido, o volume foi transferido para os microtubos identificados e o conteúdo centrifugado (Microcentrífuga – INCIBRÁS – SPIN 1, Instrumentação Científica Brasileira e Comércio Ltda., SP, Brasil) por 4 minutos, na velocidade de 16000 rpm. O precipitado foi desprezado e o sobrenadante submetido à leitura no espectrofotômetro (BECKMAN – DU 70, Beckman Instruments, Inc, Fullerton, CA, USA) (FIG. 19) no comprimento de onda de 280 nm, para determinação da quantidade de proteínas (CURY *et al.*, 1994; MENDONÇA, 1999; LEITE JR., 2001). A solução de hidróxido de sódio (NaOH) – 1,0 M foi utilizada como blank. Ao término de cada ciclo de

formação de biofilme, os resultados foram anotados e tabulados, para posterior análise estatística. Entre as fases, houve um intervalo de três dias para neutralização dos resíduos e novos dispositivos intra-orais foram confeccionados para os voluntários seguindo as mesmas características já citadas anteriormente.



Figura 19 - Espectrofotômetro utilizado para quantificação do biofilme.

4.2.5 Avaliação da rugosidade superficial - final

Após a remoção do biofilme para determinação da quantidade de proteínas, os corpos de prova foram retirados do dispositivo intra-oral recortado, lavados em água corrente, secos com papel absorvente e posicionados novamente na base de resina acrílica, para que a rugosidade superficial final (T1) do espécime fosse mensurada da mesma maneira como descrito anteriormente.

4.2.6 Delineamento estatístico

Foram realizados dois tipos de análises e, em ambas, os voluntários foram considerados como blocos, de acordo com as particularidades de cada condição experimental.

A avaliação da rugosidade superficial seguiu um delineamento de parcelas subdivididas (split-plot) em blocos casualizados, considerando os voluntários como blocos, sendo as parcelas, os três tratamentos e as subparcelas, os períodos (antes e depois); ao todo foram considerados 78 valores para a análise.

Para a avaliação do acúmulo de biofilme *in situ*, foi considerado um delineamento em blocos casualizados, com 39 parcelas (uma medida apenas por parcela), contendo 13 blocos (voluntários) e 3 tratamentos.

Tabela 2 - Delineamento estatístico para a avaliação da rugosidade superficial

C. V.	G. L.
Voluntário (bloco)	12
Tratamento	2
Tratamentos*voluntário (Resíduo a)	24
Período	1
Tratamentos*período	2
Erro (Resíduo b)	36
Total	77

Tabela 3 - Delineamento estatístico para a avaliação do acúmulo de biofilme *in situ*

C. V.	G. L.
Tratamento	2
Voluntário (Bloco)	12
Resíduo	24
Total	38

Para a análise dos dados, dois programas estatísticos foram utilizados: o software SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 10.0.5 e o software SAS versão 8.0.

5. RESULTADOS

Os dados foram submetidos à análise exploratória para cada variável e após verificação das pressuposições de normalidade, homogeneidade de variância e ausência de dados discrepantes (outliers), procedeu-se aos testes estatísticos adequados.

5.1 Avaliação da rugosidade superficial

Os dados de rugosidade superficial foram obtidos através de uma média aritmética de três leituras realizadas em cada corpo de prova antes e após a aplicação dos tratamentos (ANEXO 4).

Tabela 4 - Resultado da Análise de Variância para Rugosidade Superficial

Fontes de Variação	G. L.	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	Valor de F	p-valor
Blocos (Voluntários)	12	0,09390000	0,00782500	1,50	0,1708
Tratamentos	2	0,00246410	0,00123205	0,16	0,8527
Tratamentos*blocos (Resíduo a)	24	0,18426923	0,00767788	1,47	0,1452
Período	1	0,05335385	0,05335385	10,20	0,0029 *
Tratamentos*período	2	0,01690000	0,00845000	1,62	0,2128
Erro (Resíduo b)	36	0,18824615	0,00522906		
Total Corrigido	77	0,53913333			

$R^2 = 0,650836$ coef. variação (C.V.) = 14,96115

*Diferenças estatísticas significativas em nível de 1%

Verificou-se para este modelo, um coeficiente de variação de 14,96% (C.V.= 14,96) e que o modelo explica cerca de 65% da variação dos dados ($R^2 = 65,08\%$).

Na Tabela 4, pode-se verificar que os tratamentos não diferiram entre si e também não ocorreu interação entre tratamentos e períodos ($p > 0,05$).

Observa-se nas Tabelas 4 e 5 e Figura 20, que houve diferença estatística significativa apenas entre os períodos (antes e após a aplicação dos tratamentos).

Tabela 5 - Médias e desvios padrão da rugosidade superficial (μm) de acordo com os grupos e períodos antes e depois.

Período	G1 (controle)	G2 (Ortoform)	G3 (hipoclorito de sódio 0,05%)
Antes (T0)	0,4546 (0,0903) Aa	0,4431 (0,0599) Aa	0,4738 (0,0632) Aa
Depois (T1)	0,4969 (0,0982) Ab	0,5354 (0,1015) Ab	0,4962 (0,0494) Ab

Médias seguidas de distintas maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical diferem entre si.

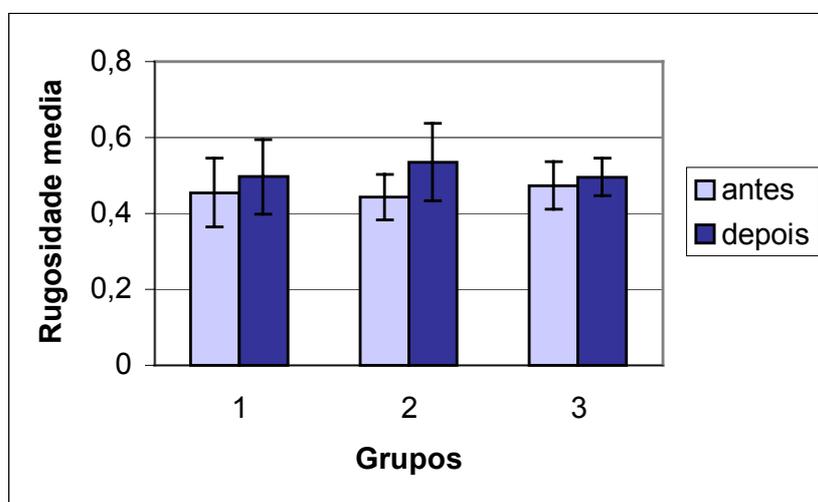


Figura 20 – Médias e desvios padrão da rugosidade (μm) em função dos grupos: 1 - controle, 2 - solução limpadora enzimática (Ortoform), 3 - hipoclorito de sódio 0,5% e períodos: antes e depois.

5.2 Avaliação do acúmulo de biofilme *in situ*

Para a análise da avaliação do acúmulo de biofilme *in situ*, foram utilizados os dados de absorvância obtidos em espectrofotômetro. A Tabela 6 apresenta a Análise de Variância (ANOVA) correspondente e no Anexo 4 encontram-se os dados obtidos para esta análise.

Tabela 6 - Resultado da Análise de Variância para o acúmulo de biofilme *in situ*

Fonte de Variação	G.L.	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F	p-valor (F)
Tratamentos	2	0,03726783	0,01863392	17,59	< 0,0001
Blocos (Voluntários)	12	0,02204306	0,00183692	1,73	0,1213
Resíduo	24	0,02542196	0,00105925		
Total Corrigido	38	0,08473285			

$R^2 = 0,699975$ C.V. = 6,336824 Raiz do EMQ = 0,032546 Média Geral = 0,513603

Verificou-se um baixo coeficiente de variação (6,34%) mostrando que a variação dos dados foi bem controlada e um valor razoavelmente alto para o coeficiente de determinação, mostrando que o modelo explica cerca de 70% da variação total destes dados.

Como foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,0001$), procedeu-se ao teste de Tukey para evidenciar as diferenças individuais. Verificou-se que houve diferença estatística significante entre o grupo 3 (hipoclorito de sódio 0,5%) em relação aos grupos 1 e 2 (controle e solução limpadora enzimática – Ortoform), que não diferiram entre si. As médias e os desvios padrão para acúmulo de biofilme estão apresentadas na Tabela 7 e Figura 21.

Tabela 7 – Médias e desvios padrão para o acúmulo de biofilme.

Grupos	Médias	Desvio Padrão	Teste de Tukey* ($\alpha = 1\%$)
1 (controle)	0,54738	0,0298	a
2 (Ortoform)	0,52075	0,0436	a
3 (hipoclorito de sódio 0,5%)	0,47268	0,0341	b

*Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey, 1% de probabilidade.

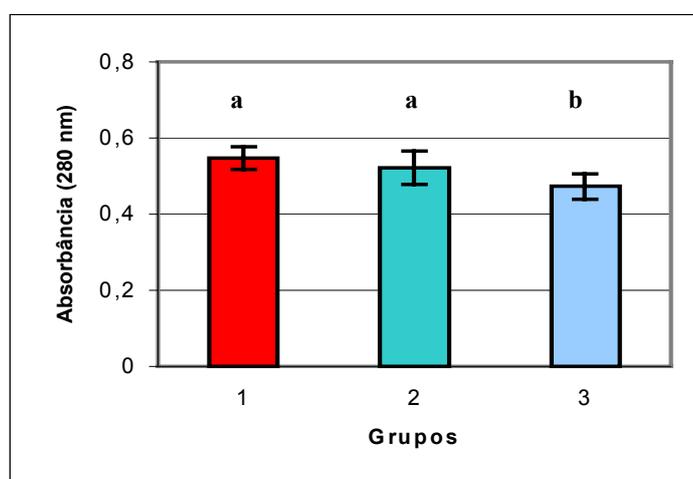


Figura 21 – Médias e desvios padrão do acúmulo de biofilme (absorvância) segundo os grupos: 1 - controle, 2 - solução limpadora enzimática (Ortoform), 3 - hipoclorito de sódio 0,5%.

6. DISCUSSÃO

Os procedimentos laboratoriais de acabamento e polimento das próteses são necessários para obtenção de superfícies lisas e homogêneas, na tentativa de reduzir o acúmulo de placa bacteriana e conseqüentemente, a ocorrência de doenças na cavidade bucal, além de facilitar o processo de limpeza (BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, 1979, VERRAN & MARYAN, 1997; QUIRYNEN & BOLLEN, 1995). Entretanto, as técnicas de polimento laboratorial nem sempre apresentam padronização e uma superfície considerada lisa visualmente, pode ser microretentiva e favorecer a colonização microbiana (TAYLOR *et al.*, 1998). A adesão de microrganismos ocorre inicialmente em ranhuras e depressões existentes na resina acrílica até atingir toda área adjacente (MORRIS *et al.*, 1987).

Também foi verificado menor formação de depósito no material à base de polimetilmetacrilato e constatado que a real formação deste depósito nos materiais odontológicos, provavelmente é influenciada pela geometria, área de superfície e outros fatores, além de ser dependente do local de formação e do voluntário (ZANGHELLINI *et al.*, 1993 e 1995).

As características de superfície dos materiais odontológicos, dentre elas, a rugosidade superficial, é de grande relevância clínica pois pode afetar o acúmulo de placa bacteriana e o manchamento superficial (QUIRYNEN *et al.*, 1990; BOLLEN *et al.*, 1997; VERRAN & MARYAN, 1997; TAYLOR *et al.*, 1998; ZISSIS *et al.*, 2000). Uma superfície é considerada rugosa quando apresenta protuberâncias e reentrâncias, com grande amplitude e curto comprimento de onda. A rugosidade depende de vários fatores,

alguns deles relacionados com o próprio material, sua lisura, porosidade, etc. e outros se referem ao equipamento (LEITÃO & HEGDAHL, 1981), podendo ser expressa numericamente por diversos parâmetros sendo o mais comumente utilizado, a rugosidade média (Ra), obtida pela média aritmética entre os picos e vales percorridos pela ponta ativa do aparelho.

Os resultados obtidos na avaliação da rugosidade superficial indicaram que não houve diferença significativa entre os tratamentos e não houve interação entre estes e períodos (TAB. 4). Neste estudo, todos espécimes foram submetidos ao mesmo procedimento de acabamento e polimento, conforme descrito por ULUSOY *et al.*, 1986 e, os valores de rugosidade superficial inicial foram superiores a 0,2 μm , indicando a possibilidade de acúmulo de placa bacteriana, já que ultrapassou o limiar de 0,2 μm , uma vez que para valores menores do que esse, a aderência bacteriana não é esperada (BOLLEN *et al.*, 1997).

A influência dos produtos químicos para higienização de próteses sobre a rugosidade superficial da resina acrílica foi avaliada por meio de rugosímetro. Os resultados obtidos apresentaram diferenças estatísticas significativas apenas quando se comparou os períodos antes e após a aplicação dos tratamentos, independente do tratamento aplicado (TAB. 4 e 5, FIG. 20). Isso provavelmente ocorreu devido à influência do ambiente bucal sobre as características de superfície da resina acrílica já que o grupo controle (sem tratamento) também apresentou maiores valores de rugosidade, após a fase experimental. As interações físico-químicas ocorridas durante este período possivelmente alteraram a superfície da resina acrílica acarretando aumento nos valores de rugosidade

superficial, pois segundo ENGELHARDT, 1974, alterações podem ser observadas nas superfícies das resinas acrílicas utilizadas na boca relacionadas à presença de bactérias e ao tempo de exposição na cavidade bucal.

Apesar das resinas apresentarem propriedades e características necessárias para o uso no meio bucal, as condições na cavidade oral são muito rígidas e apenas os materiais mais estáveis quimicamente e inertes podem suportar tais condições sem deterioração (ANUSAVICE, 1998).

Os resultados obtidos são concordes com o de SOUZA JR. (2001), que observou maior rugosidade superficial da resina acrílica, após o uso dos agentes químicos de limpeza, sendo este estudo realizado *in vitro*.

A formação da placa bacteriana sobre as próteses ocorre de maneira semelhante a placa dental (NEILL, 1968; JORGENSEN *et al.*, 1980; BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, 1981; THEILADE *et al.*, 1983; NIKAWA *et al.*, 1998). Primeiramente, a mucina e detritos alimentares se acumulam na superfície da resina acrílica, formando um depósito que oferece pouca resistência à remoção através dos procedimentos rotineiros de higiene oral, sendo uma etapa reversível. Em seguida, as bactérias orais aderem ao depósito resultando em acúmulo de placa, a qual se desenvolve e se matura, podendo ser invadida por sais de cálcio liberados pela saliva (NEILL, 1968). Desta forma, o seu controle é igualmente importante visto que a placa bacteriana é considerada fator etiológico de diversas doenças na cavidade bucal (BUDTZ-JORGENSEN, 1979; JORGENSEN *et al.*, 1980; THEILADE *et al.*, 1983; QUIRYNEN & BOLLEN, 1995).

De acordo com os resultados obtidos na avaliação do acúmulo de biofilme *in situ*, verificou-se diferença estatística significativa entre o tratamento com hipoclorito de sódio a

0,5% em relação ao tratamento com solução limpadora enzimática e o grupo controle (sem tratamento), que não diferiram estatisticamente entre si (TAB. 7 e FIG. 21). Ocorreu menor acúmulo de biofilme para o grupo tratado com hipoclorito de sódio a 0,5%. Este resultado está de acordo com os obtidos nos trabalhos de RUDD *et al.*, 1984; BASSON *et al.*, 1992; CHAU *et al.*, 1995; WEBB *et al.*, 1995, KULAK *et al.*, 1997, quando estes constataram maior eficácia de limpeza das soluções de hipoclorito de sódio.

A imersão das próteses em hipoclorito é recomendada devido à sua capacidade de limpeza, visto que ele é efetivo na dissolução da placa, inibe a formação de cálculo atuando sobre a matriz da placa, remove manchas e apresenta características bactericidas e fungicidas (JAGGER & HARRISON, 1995). O hipoclorito de sódio remove mucina e outros depósitos orgânicos acumulados sobre as próteses tendo como desvantagem a possibilidade de causar clareamento da resina acrílica e poder provocar oxidação dos conectores metálicos, além de possuir odor e sabor desagradável (KEMPLER *et al.*, 1982; DENTURE ..., 1983; ABELSON, 1985), estando indicado sua associação com outros agentes de limpeza e lavagem cuidadosa após seu uso (ABELSON, 1985).

Dentre outros produtos químicos utilizados apresentando resultados promissores, estão os limpadores enzimáticos que geralmente contém protease e mutanase, cuja ação enzimática degrada as proteínas e polissacarídeos da placa bacteriana aderida às próteses (DENTURE ..., 1983) promovendo uma higienização adequada das mesmas sem causar efeitos adversos sobre a resina acrílica e a liga metálica (CONNOR *et al.*, 1977; BUDTZ-JORGENSEN & KELSTRUP, 1977; BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, 1983). Entretanto, o período de imersão nestas soluções ainda é muito questionado, visto que alguns destes produtos não se mostraram efetivos durante períodos curtos. O período de imersão no

limpador enzimático (Ortoform) utilizado neste estudo foi de somente 30 minutos, estando também indicado para o período de 8 horas. Porém, optou-se pelo período curto de imersão, levando em consideração a resistência de alguns pacientes removerem as próteses durante períodos prolongados. Os trabalhos de RUSSELL & ELAHI (1982) e KENG & LIM (1996) também revelaram que somente a imersão das próteses nos limpadores químicos durante um período curto não foi efetiva na remoção da placa bacteriana.

Assim, sugere-se que os valores de absorbância do grupo tratado com o produto enzimático superiores aos apresentados pelo hipoclorito de sódio a 0,5%, podem ter ocorrido devido ao período curto de imersão na solução. Tendo em vista esses aspectos, diversos autores recomendaram a associação dos métodos químico e mecânico a fim de obter uma limpeza mais efetiva das próteses (NICHOLSON *et al.*, 1968; RUSSELL & ELAHI, 1982; BUDTZ-JORGENSEN *et al.*, 1983; DILLS *et al.*, 1988, ODMAN, 1992; KENG & LIM, 1996).

De acordo com os resultados obtidos e a revisão de literatura sugere-se que novas pesquisas precisam ser realizadas para esclarecimentos das dúvidas existentes.

7. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos pode-se concluir que:

- A rugosidade superficial da resina acrílica aumentou após a permanência dos espécimes na cavidade bucal.
- Houve menor acúmulo de biofilme sobre os espécimes de resina acrílica tratados com hipoclorito de sódio a 0,5%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABELSON, D.C. Denture plaque and denture cleansers: Review of the literature. **Gerodontics**, Copenhagen, v.1, n.5, p.202-206, 1985.

ANUSAVICE, K.J. **Materiais Dentários de Phillips**. 10.ed. Trad. por Edson Jorge Lima Moreira. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, 412p. Tradução de Phillips' Science of Dental Materials.

BASSON, N.J.; QUICK, A.N.; THOMAS, C.J. Household products as sanitising agents in denture cleansing. **J Dent Assoc S Afr**, Cape Town, v.47, n.10, p.437-439, Oct. 1992.

BOLLEN, C.M.L.; 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**, Oxford, v.13, p.258-269, July 1997.

BRAUN, K. **Avaliação do efeito do polimento químico sobre algumas propriedades físico químicas das resinas acrílicas ativadas química e termicamente**. Piracicaba, 1999. 75p. Tese (doutorado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

BUDTZ-JORGENSEN, E. *et al.* Method for studying the development, structure and microflora of denture plaque. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v.89, p.149-156, 1981.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos títulos dos periódicos em conformidade com o MEDLINE.

BUDTZ-JORGENSEN, E. Materials and methods for cleaning dentures. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.42, n.6, Dec. 1979.

BUDTZ-JORGENSEN, E.; KELSTRUP, J. Enzymes as denture cleansers. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v.85, p.209-215, 1977.

BUDTZ-JORGENSEN, E.; KELSTRUP, J.; POULSEN, S. Reduction of formation of denture plaque by a Protease (Alcalase). **Acta Odontol Scand**, Oslo, v. 41, p.93-98, 1983.

CHAU, V.B. *et al.* In-depth disinfection of acrylic resins. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.74, n.3, p. 309-313, Sept. 1995.

CONNOR, J.N.E.; SCHOENFELD, C. M., TAYLOR, R.L. An evaluation of an enzyme denture cleanser. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.37, n.2, p.147-157, Feb. 1977.

CURY, J.A.; MAMBRIN, S.C.T.; GAZAL, W. In situ models to study dental plaque and/or calculus inhibition. **J Dent Res**, Washington, v. 73, p. 424, 1994. Abstract, 2579.

DENTURE cleansers. Council on Dental Materials, Instruments, and Equipment. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.106, n.1, p.77-79, Jan. 1983.

DILLS, S.S. *et al.* Comparison of the antimicrobial capability of an abrasive paste in chemical-soak denture cleaners. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.60, n.4, p.467-470, Oct. 1988.

ENGELHARDT, J.P. The microbial decomposition of dental resins and its importance to the microbial balance of the oral cavity. **Int Dent J**, London, v.24, n.3, p.376-386, Sept. 1974.

GORNITSKY, M. *et al.* A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long-term care institutions. **J Can Dent Assoc**, Ottawa, v.68, n.1, p.39-45, Jan. 2002.

JAGGER, D.C.; HARRISON, A. Denture Cleansing – the best approach. **Br Dent J**, London, v.178, n.10, p.413-417, June 1995.

JORGENSEN, E. *et al.* Microbiology of denture plaque and its control by chemical agents. **Protet Stomatol**, Warszawa, v.30, n.4/5, p.243-248, 1980.

KEMPLER, D. *et al.* The efficacy of sodium hypochlorite as a denture cleanser. **Spec Care Dentist**, Chicago, v.2, n.3, p.112-115, May/June 1982.

KENG, S.B.; LIM, M. Denture plaque distribution and effectiveness of a perborate-containing denture cleanser. **Quintessence Int**, Berlin, v.27, n.5, p. 341-345, 1996.

KULAK, Y. *et al.* Scanning electron microscopic examination of different cleaners: surface contaminant removal from dentures. **J Oral Rehabil**, Oxford, v.24, p.209-215, 1997.

LEITÃO, J.; HEGDAHL, T. On the measuring of roughness. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.39, n.6, p.379-383, 1981.

LEITE JR., F.H.C. **Avaliação do acúmulo de placa bacteriana *in situ* e da rugosidade superficial *in vitro* em resinas compostas modificadas por poliácidos submetidas a acabamento e polimento.** Piracicaba, 2001. 113p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

MENDONÇA, C.C.L. **Avaliação da rugosidade *in vitro*, e da formação de placa *in situ*, em superfícies cerâmicas submetidas a acabamento e polimento.** Piracicaba, 1999. 119p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

MINAGI, S. *et al.* Objective testing of the efficiency of denture-cleansing agents. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.58, n.5, p.595-598, 1987.

MORRIS, I.J. *et al.* The early bacterial colonization of acrylic palates in man. **J Oral Rehabil**, Oxford, v.14, p.13-21, 1987.

NAKAMOTO, K.; TAMAMOTO, M.; HAMADA, T. Evaluation of denture cleansers with and without enzymes against *Candida albicans*. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v. 66, n.6, p.792-795, Dec. 1991.

NEILL, D.J. A study of materials and methods employed in cleaning dentures. **Br Dent J**, London, v.124, n.3, p.107-115, Feb. 1968.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry**. 3rd Ed. New York: Worth Publishers, 2000. 1152 p.

NICHOLSON, R.J.; STARK, M.M.; SCOTT, H.E. Calculus and stain removal from acrylic resin dentures. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.20, n.4, p.326-329, Oct. 1968.

NIKAWA, H. *et al.* A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. **Int J Prosthodont**, Orlando, v.12, n.2, p.153-159, 1999.

NIKAWA, H.; HAMADA, T.; YAMAMOTO, T. Denture Plaque - past and recent concerns. **J Dent**, Oxford, v.26, n.4, p.299-304, 1998.

ODMAN, P.A. The effectiveness of an enzyme-containing denture cleanser. **Quintessence Int**, Berlin, v 23, n.3, p.187-190, 1992.

QUIRYNEN, M. *et al.* The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation - An in vivo study in man. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.17, p.138-144, 1990.

QUIRYNEN, M.; BOLLEN, C.M.L. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.22, p.1-14, 1995.

RENNER, R.P.; BOUCHER, L.J. Removable partial dentures. Chicago: Quintessence Books, 1987, 415p.

RUDD, R.W. *et al.* Sterilization of complete dentures with sodium hypochlorite. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.51, n.3, p.318-321, Mar. 1984.

RUSSELL, H.A.; ELAHI, J.M. Evaluation of seven proprietary denture cleansers. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.47, n. 4, p.356-359, Apr.1982.

SESMA, N. *et al.* Eficiência de Métodos Caseiros de Higienização e Limpeza de Próteses Parciais Removíveis. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v.53, n.6, p.463-468, Nov./Dez. 1999.

SOUZA JR., J.A. **Avaliação *in vitro* da dureza superficial de uma resina acrílica para microndas e rugosidade da mesma e de duas Ligas metálicas quando submetidas a agentes químicos de limpeza.** Piracicaba, 2001. 102p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

TARBET, W.J. *et al.* Denture cleansing: A comparison of two methods. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.51, n.3, p.322-325, Mar. 1984.

TAYLOR, R.; MARYAN, C.; VERRAN, J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.80, n.5, p.592-597, Nov. 1998.

THEILADE, E.; BUDTZ-JORGENSEN, E.; THEILADE, J. Predominant Cultivable Microflora of plaque on removable dentures in patients with healthy oral mucosa. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.28, n.8, p. 675-680, 1983.

ULUSOY, M.; ULUSOY, N.; AYDIN, A.K. An evaluation of polishing techniques on surface roughness of acrylic resins. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.56, n.1, p.107-112, July 1986.

VERRAN, J.; MARYAN, C.J. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.77, n.5, p.535-539, May 1997.

WEBB, B.C. *et al.* The effect of sodium hypochlorite on potential pathogenic traits of *Candida albicans* and other *Candida* species. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.10, p.334-341, 1995.

ZALKIND, M.M. *et al.* Accumulation of *Streptococcus mutans* on light-cured composites and amalgam: An in vitro study. **J Esthet Dent**, Philadelphia, v.10, n.4, p.187-190, 1998.

ZANGHELLINI, G *et al.* Deposit formation on prosthetic materials in vivo after one year: A quantitative study of twelve materials. **Adv Dent Res**, Washington, v.9, n.4, p.443-449, Dec. 1995.

ZANGHELLINI, G.; RHEINBERGER, V.; ARENDS, J. Quantification of deposits formed in the oral cavity on various materials after a 1-year period. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, v.70, n.5, p.414-420, Nov. 1993.

ZISSIS, A.J. *et al.* Roughness of denture materials: A comparative study. **Int J Prosthodont**, Orlando, v.13, n.2, p.136-140, 2000.

ANEXO 1

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa

Avaliação *in situ* do acúmulo de placa bacteriana e rugosidade superficial de uma resina acrílica polimerizada por energia de microondas quando submetida à agentes químicos de limpeza.

Objetivo

Avaliar o acúmulo de placa bacteriana e a rugosidade superficial de uma resina acrílica polimerizada por energia de microondas quando submetida à agentes químicos de limpeza de próteses.

Justificativa

Embora o método mais comum de limpeza de prótese seja a escovação com água e sabão ou dentífrico, existem pessoas que temporariamente ou não, ficam incapacitadas de promover uma higienização adequada das próteses com este método, principalmente os idosos que apresentam redução da acuidade visual e destreza manual. Nestes casos, a imersão das próteses em limpadores químicos seria o método mais adequado, salientando que estes limpadores não devem promover danos às mesmas e aos tecidos orais. Assim, é objetivo deste trabalho avaliar o acúmulo de placa bacteriana sobre uma resina acrílica polimerizada por energia de microondas quando submetida à agentes químicos de limpeza, através da análise da concentração de proteína da placa formada *in situ* e a influência destes na rugosidade superficial da resina.

Procedimento da fase experimental

O estudo *in situ* será do tipo cruzado, consistindo de três fases de quatro dias, em que participarão 13 voluntários adultos utilizando dispositivos intra-orais contendo amostras de resina acrílica de microondas, distribuídos por sorteio nos grupos:

Grupo 1: sem tratamento (controle)

Grupo 2: solução limpadora enzimática – Ortoform

Grupo 3: Hipoclorito de sódio 0,5%

Vocês deverão imergir os aparelhos em solução de sacarose 20% durante 8 X ao dia nos horários (8:00, 9:30, 11:00, 14:00, 15:30, 17:00, 19:00, 21:00) para estimular a formação de placa bacteriana. A distribuição dos voluntários para cada grupo será feita por sorteio.

No grupo 1 (controle), você deverá apenas higienizar a parte interna do dispositivo através de movimentos leves de vai-e-vem com escova e dentífrico fornecidos, 1 vez ao dia.

Nos grupos 2 e 3, a higienização do dispositivo deverá ser feita com o agente de limpeza designado para cada grupo, seguindo as recomendações do fabricante. No grupo 2, os dispositivos serão imersos na solução limpadora enzimática – Ortoform (Fórmula e Ação, São Paulo, Brasil) durante 30 minutos, 1 vez ao dia. No grupo 3, os dispositivos serão imersos no hipoclorito de sódio 0,5% (Proderma, Piracicaba-SP, Brasil) também 1 vez ao dia, durante 10 minutos. Assim, todos os voluntários serão submetidos a todos os tratamentos. Será feito um intervalo de 3 dias entre os tratamentos e após a conclusão de cada fase do experimento, serão analisados o acúmulo de placa bacteriana *in situ*, através da concentração de proteína e os valores de rugosidade superficial da resina.

Desconforto ou riscos esperados e benefícios

Você poderá realizar higiene oral adequada, assim como a higiene dos dispositivos com os limpadores químicos específicos para cada fase, não ocasionando riscos.

O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto na 1ª semana de uso, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel. Durante todo o período da pesquisa, acompanhamentos semanais serão realizados, para verificar as condições do aparelho, da sua saúde bucal e para troca da solução de sacarose.

O benefício que vocês terão será um auxílio indireto, contribuindo para a realização deste projeto e o conhecimento que vocês adquirirão sobre a eficácia do método químico de

limpeza na remoção da placa bacteriana associada à prótese e a influência deste sobre a rugosidade superficial de uma resina acrílica polimerizada por energia de microondas. Este conhecimento poderá ser utilizado futuramente em prol da população para manutenção da saúde oral.

Forma de acompanhamento e assistência

Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição de vocês para ajuste no aparelho intra-oral a fim de minimizar qualquer desconforto.

Garantia de esclarecimentos

Você tem garantia de que receberá resposta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados à pesquisa.

Formas de ressarcimento

Como a remoção das amostras de resina acrílica deve ser feita em jejum, será oferecido um café da manhã.

Formas de indenização

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa.

Garantia de sigilo

Os pesquisadores asseguram a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Liberdade para se recusar em participar da pesquisa:

A decisão de fazer parte desta pesquisa é voluntária. Você pode escolher se quer ou não participar, assim como poderá desistir de participar a qualquer momento.

Os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a sua vontade em continuar

participando. Qualquer dúvida ou problema com o dispositivo intra-oral, por favor, comunicar-nos com a maior brevidade possível.

Tel: 3412-5295 (Laboratório de Prótese Parcial Removível)

3412-5294 (Profa. Altair)

3435-1344 (Emilena)

SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO E QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES ACIMA EXPLICADAS

Nome do voluntário (por extenso)

Assinatura do voluntário

Documento: _____

ATENÇÃO: A SUA PARTICIPAÇÃO EM QUALQUER TIPO DE PESQUISA É VOLUNTÁRIA. EM CASO DE DÚVIDA QUANTO AOS SEUS DIREITOS ESCREVA PARA O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FOP-UNICAMP.

Endereço: Av. Limeira, 901 CEP – FOP, CEP 13.414-903 Piracicaba, SP

ANEXO 3

INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS

1. Durante uma semana, antes do início do experimento, utilize somente a escova e dentifrício fornecidos pelos pesquisadores e também durante todo o período do experimento.
2. O dispositivo intrabucal deverá ser usado por um período de 4 dias com intervalo de 3 dias entre uma fase e outra.
3. O dispositivo deverá ser usado durante todo o tempo, inclusive para dormir.
4. Durante as refeições, o dispositivo deverá ser removido e mantido em recipiente apropriado (fornecido pelo pesquisador).
5. Os procedimentos de higiene bucal serão mantidos, sem qualquer alteração.
6. O dispositivo deverá ser imerso na solução de sacarose 20% oito vezes ao dia, por 5 minutos, nos horários: (8:00, 9:30, 11:00, 14:00, 15:30,17:00, 19:00, 21:00).
7. A higienização do dispositivo deverá ser feita com o agente de limpeza designado para cada grupo (fornecido pelo pesquisador), seguindo as recomendações do fabricante.
8. Em seguida a utilização do limpador e no grupo controle (sem limpador), higienize a parte interna do dispositivo através de movimentos leves de vai-e-vem com escova e dentifrício fornecidos.
9. Qualquer desconforto ou dúvida decorrente da utilização do dispositivo deverá ser imediatamente comunicado aos pesquisadores, para que o problema seja solucionado.
10. Sua colaboração é essencial para que esta pesquisa transcorra satisfatoriamente.
11. Comparecer ao consultório de Prótese Parcial Removível da FOP-UNICAMP nas seguintes datas e horários:

Data: _____ às: _____ horas (moldagem)

Data: _____ às: _____ horas (entrega escovas e dentifrícios, ajustes do dispositivo)

Data: _____ às: _____ horas (prova e instalação do dispositivo)

Data: _____ às: _____ horas (remoção do dispositivo)

ANEXO 4

Dados referentes à rugosidade - Período 1 (antes).

PERÍODO	TRATAMENTO	VOLUNTÁRIO	RUGOSIDADE
1	1	1	0,54
1	1	1	0,39
1	1	1	0,52
1	1	1	0,47
1	1	1	0,68
1	1	1	0,39
1	1	1	0,46
1	1	1	0,33
1	1	1	0,42
1	1	1	0,49
1	1	1	0,37
1	1	1	0,42
1	1	1	0,43
<hr/>			
1	2	1	0,51
1	2	2	0,46
1	2	3	0,46
1	2	4	0,42
1	2	5	0,41
1	2	6	0,46
1	2	7	0,43
1	2	8	0,43
1	2	9	0,59
1	2	10	0,43
1	2	11	0,44
1	2	12	0,37
1	2	13	0,35
<hr/>			
1	3	1	0,59
1	3	2	0,54
1	3	3	0,48
1	3	4	0,43
1	3	5	0,43
1	3	6	0,47
1	3	7	0,5
1	3	8	0,53
1	3	9	0,47
1	3	10	0,37
1	3	11	0,38

1	3	12	0,45
1	3	13	0,52

Dados referentes à rugosidade e dosagem de proteína - Período 2 (depois).

PERÍODO	TRATAMENTOS	VOLUNTÁRIOS	RUGOSIDADE	DOSE DE PROTEÍNA
2	1	1	0,66	0,6182
2	1	2	0,49	0,5348
2	1	3	0,65	0,5673
2	1	4	0,45	0,5186
2	1	5	0,46	0,5287
2	1	6	0,32	0,5508
2	1	7	0,45	0,5338
2	1	8	0,45	0,5508
2	1	9	0,51	0,5816
2	1	10	0,42	0,5370
2	1	11	0,62	0,5320
2	1	12	0,54	0,5021
2	1	13	0,44	0,5602
<hr/>				
2	2	1	0,51	0,4688
2	2	2	0,55	0,4274
2	2	3	0,56	0,5105
2	2	4	0,67	0,5030
2	2	5	0,41	0,5357
2	2	6	0,54	0,5584
2	2	7	0,77	0,5950
2	2	8	0,38	0,5261
2	2	9	0,60	0,5272
2	2	10	0,45	0,5183
2	2	11	0,51	0,5299
2	2	12	0,46	0,4942
2	2	13	0,55	0,5753
<hr/>				
2	3	1	0,56	0,4572
2	3	2	0,51	0,3807
2	3	3	0,41	0,4801
2	3	4	0,42	0,4981
2	3	5	0,59	0,4756
2	3	6	0,50	0,4658
2	3	7	0,51	0,5036
2	3	8	0,51	0,5044
2	3	9	0,46	0,4764
2	3	10	0,49	0,4326
2	3	11	0,47	0,4890

2	3	12	0,50	0,4908
2	3	13	0,52	0,4905

Programa SAS para os dados referentes à variável Dose de Proteína

```

data;
input trat bloco proteina;
cards;
1 1 ,6182
1 2 ,5348
1 3 ,5673
1 4 ,5186
1 5 ,5287
1 6 ,5508
1 7 ,5338
1 8 ,5508
1 9 ,5816
1 10 ,537
1 11 ,532
1 12 ,5021
1 13 ,5602
2 1 ,4688
2 2 ,4274
2 3 ,5105
2 4 ,503
2 5 ,5357
2 6 ,5584
2 7 ,595
2 8 ,5261
2 9 ,5272
2 10 ,5183
2 11 ,5299
2 12 ,4942
2 13 ,5753
3 1 ,4572
3 2 ,3807
3 3 ,4801
3 4 ,4981
3 5 ,4756
3 6 ,4658
3 7 ,5036
3 8 ,5044
3 9 ,4764
3 10 ,4326
3 11 ,4890
3 12 ,4908
3 13 ,4905
;
proc print;
title 'Dados para verificação';
run;

```

```

proc glm;
title 'Análise de variância - blocos casualizados';
class trat bloco;
model proteina = bloco trat;
means trat/tukey;
run;

```

Análise de variância - blocos casualizados

```

                The GLM Procedure
            Class Level Information

Class      Níveis  Valores
trat       3      1 2 3
bloco     13      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
Number of observations      39

```

Análise de variância - blocos casualizados

```

                The GLM Procedure

Dependent Variable: proteina

Source      DF      Sum of Squares      Mean Square      F Value      Pr > F
Model      14      0,05931089      0,00423649      4,00      0,0014
Error      24      0,02542196      0,00105925
Corrected Total      38      0,08473285

R-Square      Coeff Var      Root MSE      proteina Mean
0,699975      6,336824      0,032546      0,513603

Source      DF      Type III SS      Mean Square      F Value      Pr > F
bloco      12      0,02204306      0,00183692      1,73      0,1213
trat       2      0,03726783      0,01863392      17,59      <,0001

```

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for proteina

NOTE: This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type

II error rate than REGWQ,

```

Alpha      0,05
Error Degrees of Freedom      24
Error Mean Square      0,001059
Critical Value of Studentized Range      3,53170
Minimum Significant Difference      0,0319

```

Means with the same letter are not significantly different,

```

Tukey Grouping      Mean      N      trat
A      0,54738      13      1
A      0,52075      13      2
B      0,47268      13      3

```

```
data;
input epoca trat bloco rugos;
cards;
1 1 1 0,54
1 1 2 0,39
1 1 3 0,52
1 1 4 0,47
1 1 5 0,68
1 1 6 0,39
1 1 7 0,46
1 1 8 0,33
1 1 9 0,42
1 1 10 0,49
1 1 11 0,37
1 1 12 0,42
1 1 13 0,43
1 2 1 0,51
1 2 2 0,46
1 2 3 0,46
1 2 4 0,42
1 2 5 0,41
1 2 6 0,46
1 2 7 0,43
1 2 8 0,43
1 2 9 0,59
1 2 10 0,43
1 2 11 0,44
1 2 12 0,37
1 2 13 0,35
1 3 1 0,59
1 3 2 0,54
1 3 3 0,48
1 3 4 0,43
1 3 5 0,43
1 3 6 0,47
1 3 7 0,50
1 3 8 0,53
1 3 9 0,47
1 3 10 0,37
1 3 11 0,38
1 3 12 0,45
1 3 13 0,52
2 1 1 0,66
2 1 2 0,49
2 1 3 0,65
2 1 4 0,45
2 1 5 0,46
2 1 6 0,32
2 1 7 0,45
2 1 8 0,45
2 1 9 0,51
2 1 10 0,42
2 1 11 0,62
2 1 12 0,54
```

```

2 1 13 0,44
2 2 1 0,51
2 2 2 0,55
2 2 3 0,56
2 2 4 0,67
2 2 5 0,41
2 2 6 0,54
2 2 7 0,77
2 2 8 0,38
2 2 9 0,60
2 2 10 0,45
2 2 11 0,51
2 2 12 0,46
2 2 13 0,55
2 3 1 0,56
2 3 2 0,51
2 3 3 0,41
2 3 4 0,42
2 3 5 0,59
2 3 6 0,50
2 3 7 0,51
2 3 8 0,51
2 3 9 0,46
2 3 10 0,49
2 3 11 0,47
2 3 12 0,50
2 3 13 0,52
proc print;
title 'Dados para verificação';
run;
proc glm;
title 'Análise de variância - parcelas subdivididas';
class trat epoca bloco;
model rugos = bloco trat trat*bloco epoca epoca*trat;
test h=trat e=trat*bloco;
means trat/tukey e=trat*bloco;
means epoca/tukey;
run;
proc glm;
title 'ANAVA - época dentro de tratamento';
class trat epoca bloco;
model rugos = bloco trat trat*bloco epoca epoca*trat;
lsmeans epoca*trat/slice=trat;
test h=trat e=trat*bloco;
run;
proc glm;
title 'ANAVA - tratamento dentro de época';
class trat epoca bloco;
model rugos = bloco trat epoca epoca*trat;
lsmeans epoca*trat/slice=epoca adjust=tukey PDIFF=all;
*test h=trat e=trat*bloco;
run;

```