

**PRISCILLA CRISTOFORIDES PEREIRA**

**EFEITO DA ESCOVAÇÃO NA FORMAÇÃO *IN SITU*  
DE BIOFILME DENTÁRIO INICIAL E NA  
RUGOSIDADE SUPERFICIAL EM CERÂMICA DE Y-  
TZP APÓS VITRIFICAÇÃO E POLIMENTO**



**PRISCILLA CRISTOFORIDES PEREIRA**

**EFEITO DA ESCOVAÇÃO NA FORMAÇÃO *IN SITU* DE  
BIOFILME DENTÁRIO INICIAL E NA RUGOSIDADE  
SUPERFICIAL EM CERÂMICA DE Y-TZP APÓS  
VITRIFICAÇÃO E POLIMENTO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de Prótese Dentária.

Nome do Orientador: Prof. Dr. Rubens Nisie Tango

São José dos Campos

2010

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:  
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para  
Normalização de Trabalhos Acadêmicos da FOSJC. São José dos  
Campos: FOSJC/UNESP; 2008

P414e Pereira, Priscilla Cristoforides.  
Efeito da escovação na formação in situ de biofilme dentário inicial e na  
rugosidade superficial em cerâmica de y-tzp após vitrificação e polimento /  
Priscilla Cristoforides Pereira. \_\_ São José dos Campos : [s.n.], 2010  
100f. : il.

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) – Faculdade de  
Odontologia de São Jose dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2010.  
Orientador: Prof. Dr. Rubens Nisie Tango

1. Biofilme dentário. 2. Cerâmica de infraestrutura. 3. Rugosidade superficial.  
4. Microscopia confocal. 5. Escovação simulada. I. Tango, Rubens Nisie. II.  
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de São José dos  
Campos. III. Título

tD15

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da  
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

## AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio  
convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 22 de Abril de 2010 .

Assinatura :

E-mail: pcrisforides@yahoo.com.br

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Rubens Nisie Tango (Orientador)**

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos  
Universidade Estadual Paulista - UNESP

**Prof. Adj. Estevão Tomomitsu Kimpara**

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos  
Universidade Estadual Paulista - UNESP

**Profa. Adj. Karla Zanini Kantorski**

Faculdade de Odontologia  
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

São José dos Campos, 31 de Maio de 2010.

## DEDICO ESTA DISSERTAÇÃO

*A Deus, pelo presente precioso da vida, por ser Luz me conduzindo pelo caminho da verdade e por colocar pessoas tão maravilhosas e especiais em minha vida.*

*A minha querida mãe **Mônica Cristoforides Pereira***

*Obrigada pelo seu amor infinito, paciência e apoio. Seu exemplo de vida tem me ensinado a lutar por todos os meus objetivos com amor, honestidade e lealdade. Seu esforço foi o alicerce do meu êxito.*

*Ao meu querido pai **Teodomiro Alves Pereira** (in memoriam)*

*"Silencio"! Pois estou pensando, estou recordando... recordando acontecimentos, passagens já vividas, parte da minha vida... Os momentos de colóquio amável, a palavra de incentivo e coragem, o carinho e compreensão, toda a dedicação... E hoje, quando esse sonho se faz real meus olhos com ansiedade andam de um lado para outro procurando ver alguém que também sonhou esse momento. Desesperados voam por toda parte procurando ver uma imagem, mas ela não surge não se mostra... saudades... muitas saudades... Ah! Que vontade... do mesmo abraço do início, de um choro de alegria, de um carinho... de ouvir... "Parabéns Filha" e de dizer um muito, muito obrigado. Meus olhos rasos d'água recolhem-se... voltam-se para dentro e só a conseguem encontrar*

essa imagem tão almejada. Desaparecida... Não! Hoje, mais do que nunca, ela está presente "... junto aos meus pensamentos e a minha alma".

Ao meu querido irmão *Fábio Cristoforides Pereira*

Pela força, pela compreensão e carinho a mim dedicados, mesmo à distância, sempre presente em meus pensamentos.

Ao meu amado *Luiz Gustavo Garboci Turci*

Por todo seu amor, companheirismo, imenso carinho e paciência em todos os momentos. Deus me trouxe você e meus dias se tornaram pequenos para tanta felicidade. Seu apoio foi fundamental para que eu pudesse trilhar esse longo caminho, essa conquista também é sua.

Obrigada por fazerem parte da minha vida!

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Rubens Nisie Tango agradeço o incentivo e confiança que depositou em mim neste difícil trabalho, pelo tempo dedicado, pela sua sabedoria e experiência, esclarecendo dúvidas, orientando com valiosas sugestões para a conclusão deste trabalho. Seus ensinamentos ao longo deste período contribuíram muito para o meu crescimento profissional. O meu profundo agradecimento.*

*Ao Prof. Tit. Marco Antonio Bottino, agradeço o apoio, atenção e a disponibilidade com que ajudou sempre que precisei. Obrigada pela confiança e pela oportunidade de fazer parte desta renomada equipe. Meus sinceros agradecimentos.*

## AGRADECIMENTOS

*À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", na pessoa do Diretor Prof. Adj. José Roberto Rodrigues e do Vice-Diretor Prof. Dr. Carlos Augusto Pavanelli.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, Especialidade Prótese Dentária, coordenado pelo Prof. Adj. Clóvis Pagani, pela oportunidade concedida.*

*Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, pela contribuição na minha formação acadêmica e científica, bem como pelo prazer de ter convivido com todos durante esses anos.*

*Aos docentes do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal/ Disciplina de Microbiologia e Imunologia, Prof. Antonio Olavo Cardoso Jorge e Prof. Cristiane Yumi Koga Ito, por todo apoio e maneira prestativa com que me receberam.*



Ao Prof. Dr. Luiz Felipe Valandro Soares e Prof. Dra Karla Kantorski , pelos conhecimentos transmitidos, pela maneira com que sempre me atenderam com atenção, mostrando-se sempre dispostos a ajudar.

Aos voluntários que participaram da fase experimental, meu muito obrigada pela paciência e cooperação de todos para a realização deste trabalho.

Às funcionárias da biblioteca da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, por toda a maneira prestativa na atenção de minhas necessidades.

Às funcionárias da seção de pós-graduação Rose, Erena e Cidinha da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, pelas informações e serviços prestados.

Ao professor Ivan Balducci pelas orientações e realização da análise estatística de minha dissertação e de outros trabalhos no decorrer do curso de mestrado. Meus sinceros agradecimentos.

Às funcionárias do departamento de prótese da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, Eliane Wenzel, Clélia Martins, Juliane Damasceno e a aluna da graduação Gabriela Freitas pelo carinho, pela amizade, pelas boas conversas e pelo cafezinho

delicioso. Muito obrigado por terem contribuído para tornar os meus dias ainda mais felizes.

Aos funcionários do laboratório, **Inês e Fernando**, do departamento de prótese da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, por toda atenção e ajuda.

Aos técnicos de microscopia confocal do Instituto de Química da USP, **Adriana Matsumura e Wilton** por me receberem tão bem e pelo cafezinho nos longos dias de análises, por toda disponibilidade e atenção com que me receberam durante as inúmeras visitas que fiz.

Aos técnicos de microscopia, **Ana Lucia Garippo (FMUSP) e Alexander Seixas de Souza (Instituto Butantan)** por compartilharem seus conhecimentos sobre microscopia confocal.

Aos técnicos de microscopia eletrônica de varredura da Faculdade de Química da unesp-Araraquara, **Sr. Sebastião**, e do Instituto de Química da USP, **Alessandra**, por me receberem para realizar as microscopias.

Meus sinceros agradecimentos à aluna de doutorado da FOP - unicamp, **Suzana Beatriz Portugal de Fúcio**. Obrigada pelo imensurável auxílio na interpretação das imagens da microscopia

*confocal, pela atenção e paciência em todos os momentos que solicitei tua ajuda.*

*Aos amigos Márcia e Luiz Carlos Garboci Turci, pela atenção, carinho e cuidado com que sempre me acolheram e me acolhem em sua casa. A vocês, minha gratidão e carinho,*

*Aos meus amigos da turma do mestrado, Diana Capelli Barca e Humberto de Lago de Castro pelo forte laço de amizade que nos une, pelo convívio harmonioso e por todos os momentos inesquecíveis em que sofremos, sorrimos e aprendemos juntos. Amigos são um presente de Deus.*

*Aos amigos de Paula Benetti, Rodrigo Othávio Assunção de Souza e Frederico dos Reis Goyatá, que contribuíram imensamente para o meu crescimento profissional, principalmente, e em quem eu me espelho e admiro muito. Obrigado pelos seus conselhos e orientações.*

*Às minhas amigas Sabrina Feitosa, Lilian Costa Anami, Susana Salazar Marocho, Marina Amaral e Paula Benetti pelos agradáveis momentos de estudos no laboratório e happy hours imprescindíveis.*

*Aos amigos Vanessa Cruz Macedo e Lucas Hian da Silva pelas boas risadas que demos juntos, pelos conselhos sinceros e pela amizade que pretendo manter por muito tempo.*

*Aos demais amigos do Programa de Pós-Graduação, Silvia Masae de Araújo Michida, Flávia Zardo Trindade, Aleska Vanderlei, Gabriel Portela, José Renato Cavalcanti, Anderson de Almeida Castilho, Lucas Zogheib, Luis Guilherme Macedo, Eurípedes Kaizo, Marianna Gonçalves, Luiz Gustavo Vasconcellos, Celina Wanderley de Abreu, Liliana May Gressler, Sheila Pestana Passos, Sandra da Costa Zamboni, Renata Melo, Regina Amaral, Aline Scalone Brentel e Pedro Corazza, pelos momentos compartilhados. Foi um prazer conviver com todos vocês.*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido.*

*E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.*

*"Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, e não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso."*

*Charles Chaplin*

## SUMÁRIO

### RESUMO

### LISTA DE FIGURAS

<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2.REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Acabamento e polimento das superfícies cerâmicas.....</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Influência das propriedades de superfície na adesão bacteriana.....</b>	<b>27</b>
<b>2.3 Formação <i>in situ</i> do biofilme dentário em materiais restauradores.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4 Análise do biofilme em microscopia confocal de varredura a laser.....</b>	<b>34</b>
<b>2.5 Efeito da escovação simulada em materiais restauradores.....</b>	<b>37</b>
<b>3. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Confecção das amostras em cerâmica.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2 Grupos experimentais.....</b>	<b>42</b>
<b>4.3 Análises realizadas.....</b>	<b>45</b>
4.3.1 Análise da rugosidade superficial.....	45
4.3.2 Simulação da escovação.....	46
4.3.3 Análise do biofilme dentário inicial formado <i>in situ</i> .....	48
4.3.3.1 Seleção dos participantes.....	48
4.3.3.2 Confecção do dispositivo bucal e fixação das amostras.....	49
4.3.4 Análise em MEV.....	51
4.3.5 Análise em MCVL.....	52
4.3.6 Análise das imagens e quantificação de propriedades do biofilme por meio do <i>software</i> COMSTAT.....	55
<b>4.4 Análises Estatísticas.....</b>	<b>56</b>

4.4.1 Rugosidade superficial.....	56
4.4.2 Formação de biofilme dentário inicial.....	57
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
<b>5.1 Rugosidade superficial.....</b>	<b>58</b>
<b>5.2 Biofilme dentário inicial <i>in situ</i> em MCVL.....</b>	<b>61</b>
5.2.1 Biovolume.....	63
5.2.2 Espessura média.....	66
<b>5.3 Análise do biofilme dentário e da topografia da superfície cerâmica em MEV.....</b>	<b>67</b>
5.3.1 Topografia da superfície cerâmica.....	67
5.3.2 Morfologia do biofilme dentário inicial.....	68
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
6.1 Discussão dos resultados.....	73
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>81</b>
<b>8. REFERÊNCIA.....</b>	<b>82</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>95</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>98</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>100</b>

Pereira, PC. Efeito da escovação na formação *in situ* de biofilme dentário inicial e na rugosidade superficial em cerâmica de Y-TZP após vitrificação e polimento [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2010.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da vitrificação e do polimento na rugosidade superficial e formação *in situ* de biofilme dentário inicial, após simulação da escovação, em cerâmica policristalina de zircônia parcialmente estabilizada por ítrio (Cercon® Zirconia, Dentsply Ceramco). Amostras foram divididas em: (C) controle – sem tratamento; (V) vitrificadas; (PS) polidas com pontas de silicone diamantadas. Metade das amostras foi submetida à simulação de escovação (400.000 ciclos). Análises da rugosidade superficial (Ra e Rz) foram realizadas antes e após os tratamentos superficiais e escovação. Dez voluntários selecionados com adequado padrão de higiene bucal receberam dispositivos oclusais individualizados para a fixação das amostras na face vestibular. Após 8 horas em ambiente bucal, as amostras foram removidas do dispositivo e avaliadas em MEV (n=5) e MCVL (n=10). A análise em MEV foi realizada por meio da seleção aleatória de cinco campos (20 x 25 µm) para cada amostra para análise descritiva do material celular/acelular depositado e da topografia superficial. Para análise em MCVL, foram captadas imagens em lentes ópticas com aumento de 10 x/ 0.3 para visualização de toda a amostra e aumento de 63 x/ 0.3 (imagens 3D com secções ópticas de 0,8 µm) para análise de biovolume e espessura média de biofilme. O software COMSTAT quantificou as imagens obtidas em MCVL. Os dados obtidos de rugosidade (µm) foram submetidos à Análise de Variância (dois fatores) e teste de Dunnett (5%). Biovolume e espessura de biofilme foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. O



grupo V apresentou maiores valores de rugosidade superficial, espessura média e biovolume de biofilme, em presença de escovação simulada. O fator escovação não foi preponderante para o aumento da rugosidade superficial. Houve correlação significativa entre rugosidade superficial e biovolume, em ausência de escovação no grupo controle. O biofilme formado apresentou predominância de cocos e bastonetes curtos, isolados e agregados. Em análises em MEV, verificou-se aspecto superficial irregular do grupo V, caracterizado por picos e vales e superfície mais lisa e uniforme nos grupos PS e C.

**Palavras-Chave:** Biofilme Dentário. Cerâmica de Infraestrutura. Rugosidade Superficial. Microscopia Confocal. Escovação Simulada

## 1. INTRODUÇÃO

As cerâmicas policristalinas de zircônia parcialmente estabilizadas por ítrio (Y-TZP, do inglês “yttrium cation-doped tetragonal zirconia polycrystals”) têm sido bastante utilizadas em função da sua alta tenacidade na confecção de infra-estruturas de coroas e próteses parciais fixas (Guazzato et al., 2004a), o que ainda se soma ao favorecimento do resultado estético das restaurações cerâmicas. Em algumas situações clínicas, quando não há espaço suficiente para aplicação da cerâmica de cobertura, a infra-estrutura de Y-TZP pode ficar exposta, recoberta apenas por vitrificação ou polida com pontas de silicone diamantadas.

Estudos *in vitro* sugerem que em próteses parciais fixas de 3 elementos em cerâmicas puras, o conector não deveria receber cerâmica de cobertura na área gengival (Guazzato et al., 2004a; White et al., 2005). Durante a função mastigatória, esta área fica sob maior concentração de tensões de tração, o que provocaria a delaminação da cerâmica de cobertura (Della Bona, 2009).

A degradação da zircônia é um fenômeno bem documentado mostrando-se notavelmente agravada pela presença da água (Sato et al., 1984; Lang et al., 1986; Chevalier et al., 1999; Guo et al., 1999). As conseqüências deste processo de envelhecimento são múltiplas e incluem a degradação de superfície com retirada de grãos e a

formação de microtrincas, assim como a diminuição da resistência mecânica (Denry, 2008).

A adesão de bactérias bucais às estruturas dentárias ou materiais restauradores é considerada fundamental para a formação do biofilme e, posteriormente, pode levar à ocorrência de lesões de cárie, gengivite e doença periodontal (Løe et al., 1965; Gibbons; Nygaard, 1968).

A partir da década de 80, com o advento da microscopia confocal laser, pôde-se estudar biofilmes dentários totalmente hidratados sem necessidade de técnicas de fixação ou inclusão. Esta ferramenta possibilitou análise das relações existentes entre bactérias, produtos extracelulares e micro-ambiente (Costerton et al., 1994; 1995; Netuschil et al., 1998; Auschill et al., 2002; Wood et al., 2000; Konishi et al., 2003).

Estudos *in vivo* e *in vitro*, utilizando variadas metodologias, têm demonstrado diferenças no biofilme formado sobre diferentes materiais restauradores (Adamczyk; Spiechowicz, 1990; Hahn et al., 1993; Takatsuka et al., 2000; Auschill et al., 2002; Rimondini et al., 2002; Konishi et al., 2003). Estas variações parecem ser consequência das propriedades dos materiais como energia livre superficial e rugosidade superficial (Jendresen; Glantz, 1981; Pratt-Terpstra et al., 1989; Quirynen et al., 1993; Gatewood et al., 1993; Quirynen; Bollen, 1995; Nassar et al., 1995).

A rugosidade superficial parece ser a propriedade dos materiais restauradores que desempenha maior influência no processo de formação do biofilme dentário. Sobre superfícies rugosas, o biofilme forma-se em maior quantidade e, sua maturação parece ocorrer mais

rapidamente quando comparado às superfícies lisas (Quirynen et al., 1993; Gatewood et al., 1993; Quirynen; Bollen, 1995).

O estudo do efeito da escovação nas alterações superficiais de materiais restauradores tem sido investigado (Tanoue et al., 2000; Yesil Duymus et al., 2003; Wang et al. 2004; Teixeira et al., 2005), dentre estes a abrasão de cerâmicas como consequência da escovação com dentifrícios tem recebido grande destaque (Goldstein; Lerner, 1991; Pereira, 2007).

A aplicação da vitrificação nas cerâmicas tem sido descrita na literatura como o tratamento mais indicado antes do uso clínico na cavidade bucal (Barghi et al., 1976; Goldstein et al., 1991). O uso de sistemas de polimento com pontas de silicone visa também proporcionar menor rugosidade superficial e formação de biofilme.

Neste contexto, maior interesse tem surgido para o desenvolvimento de materiais que acumulem menor número de microrganismos, e ao mesmo tempo apresentem ótima resistência e durabilidade e, satisfaçam as necessidades estéticas.

Considerando-se a importância das alterações das características superficiais dos materiais restauradores e das informações relativas ao sistema de polimento final para cerâmicas odontológicas, a proposta deste estudo foi a de avaliar o efeito da escovação na rugosidade superficial e na formação inicial *in situ* de biofilme dental em uma cerâmica de Y-TZP.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Acabamento e polimento das superfícies cerâmicas**

Fuzzi et al. (1996) avaliaram a rugosidade superficial de 54 amostras de porcelana Vita VMK 68. A superfície de cada amostra foi previamente preparada com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$  e lixa d'água de granulação 220. Após o glazeamento (líquido: Glasur Geller/Creation; pó: Steele's Super Glaze/ Kentzler-Kaschner Dental), foram utilizados 9 tipos de sistemas de acabamento e polimento superficial; G1 (grupo controle): acabamento superficial com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$  (Komet), G2: Acabamento com pontas diamantadas 30 e 15  $\mu\text{m}$ , G3: Acabamento com pontas diamantadas 30, 15 e 8  $\mu\text{m}$ , G4: Acabamento com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$ , seguida de ponta Carbide, G5: Acabamento com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$ , seguida do disco de borracha Ceramiste (Shofu), G6: Acabamento com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$ , seguida por Diafinish nº 40 (Renfert); G7: Acabamento com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$ , seguida do disco de borracha Ceramiste (Shofu) seguido da pasta diamantada Two Diamont Gel (Premier Dental), G8: Acabamento com ponta diamantada 30  $\mu\text{m}$ , seguida por Dia finish nº 40 e seguido da pasta diamantada Two Diamont Gel (Premier Dental). Em seguida, as

amostras foram analisadas qualitativamente em MEV, e quantitativamente por profilômetro. A melhor média de rugosidade foi obtida utilizando-se pontas diamantadas, na seqüência 30, 15 e 8  $\mu\text{m}$ . A análise em MEV mostrou que todos os tratamentos resultaram em superfícies porosas ou com presença de fissuras, entretanto a superfície glazeada, foi a que apresentou os melhores resultados. Não houve diferença significativa entre os tratamentos. O uso da ponta diamantada com 30  $\mu\text{m}$  produziu superfície mais rugosa. Nenhuma correlação foi encontrada entre os resultados do MEV e a rugosidade superficial.

Kawai et al. (2000) avaliaram a quantidade de biofilme dentário e rugosidade superficial em diferentes materiais odontológicos. Foi avaliada a relação entre a rugosidade superficial e a quantidade de placa bacteriana *in vitro*. Esse estudo comparou a quantidade de adesão dos componentes da placa (células bacterianas e glucans) nos discos cerâmicos com vários níveis de rugosidade de superfície. Foram confeccionados 60 discos com 9 mm de diâmetro de cerâmica (Vita Celay Blocks A3M-9), em seguida glazeadas (IPS Glaze-Ivoclar). As amostras foram separadas em quatro grupos; Grupo G: controle com glaze, Grupo R: glaze + lixas d'água com granulação 120, Grupo S: glaze + lixas d'água com granulação 600, e Grupo D: glaze + disco de feltro impregnado com pasta diamantada. A rugosidade de superfície foi medida em todos os grupos. A superfície obtida pelo polimento com pasta diamantada foi a que apresentou a maior lisura de superfície, seguida da superfície glazeada, lixa d'água de granulação 600 e por último, de granulação 120. A quantidade de

glucans aderido aumentou com o tempo de incubação. O valor da rugosidade de superfície e a quantidade de adesão de placa diminuíram com o aumento do polimento. Entretanto, houve maior quantidade de placa aderida em superfícies glazeadas comparadas às superfícies polidas com pasta diamantada.

Martínez-Gomis et al. (2003), comparam o efeito de quatro sistemas de acabamento e polimento em cerâmica feldspática IPS Classic (Ivoclar Vivadent). Para simular condição de ajuste intrabucal, os 4 grupos (n=10) receberam previamente acabamento com ponta diamantada 125  $\mu\text{m}$  (Komet); G1: Sistema White Silicon (Komet), G2: Kit de polimento de cerâmica (Shofu), G3: Pontas diamantadas 30  $\mu\text{m}$  e 15  $\mu\text{m}$  (Komet); e G4: Sequência de 3 discos Sof-lex (3M ESPE). Após esse procedimento, todas as amostras receberam polimento com pasta diamantada (Yeti) por 30 segundos. Após leitura em rugosímetro, concluiu-se que todos os métodos de polimento reduziram os valores rugosidade de superficial. Os discos Sof-lex mostraram melhores resultados em relação aos outros métodos, com média de rugosidade de 0,2  $\mu\text{m}$ . Entretanto, esses discos são de difícil manipulação na região de molares. A pasta diamantada não melhorou os valores de rugosidade média da superfície cerâmica com acabamento com Sof-lex; pontas diamantadas ou kit Shofu, somente reduziram a média do pico de rugosidade (Rz), embora não tenham melhorado a média de rugosidade (Ra), indicando que, todos os sistemas testados reduziram a média de rugosidade inicial, porém, dentre eles, o sistema Sof-lex foi o mais eficiente.

Al-Wahadni (2006) avaliou, *in vitro*, as alterações na rugosidade superficial de diferentes cerâmicas glazeadas, não glazeadas e polidas. Amostras padronizadas de cerâmica IPS Empress 2 e In-Ceram Alumina/Vitadur Alpha foram confeccionadas. As amostras foram desgastadas com rodas abrasivas e lixas de silicone a fim de se obter superfícies planas e, em seguida foram divididas conforme o tratamento da superfície cerâmica: aplicação de glaze; polimento com diferentes pontas do Kit Shofu para cerâmica, e superfície não glazeada. Os resultados demonstraram diferenças significativas na rugosidade em função do tipo de cerâmica e da técnica e polimento. Observou-se menor rugosidade nas amostras glazeadas de IPS Empress 2 quando comparadas às não glazeadas e às polidas com pontas do Kit Shofu. Rugosidades intermediárias foram verificadas para as amostras glazeadas e não glazeadas de IPS Empress 2. Para as amostras de In-Ceram/Vitadur Alpha glazeadas foi verificada menor rugosidade quando comparada às não glazeadas. A rugosidade das amostras não glazeadas de IPS Empress 2 foi maior do que as amostras não glazeadas de In-Ceram/Vitadur Alpha.

Kantorski et al. (2006) compararam a rugosidade média superficial das cerâmicas feldspáticas, alumina e zircônia, testando a hipótese de que a cerâmica feldspática tem baixa média de rugosidade superficial com relação às cerâmicas utilizadas para infraestrutura. Oito amostras em forma de disco (5 mm de diâmetro, 2 mm de espessura) de cada material cerâmico foram fabricadas, de acordo com as instruções dos fabricantes: V7- cerâmica feldspática (VM7, Vita), VA- cerâmica feldspática (Vitadur- $\alpha$ , Vita); IA- Cerâmica vítrea



infiltrada por alumina (Vita In-Ceram Alumina, Vita); IZS - Bloco de cerâmica vítrea infiltrada por alumina; IZB- Cerâmica reforçada por zircônia (Vita In-Ceram Zircônia 2000 para Cerec In lab). Todos os materiais foram glazeados como recomendado pelo fabricante. Utilizando-se um rugosímetro, realizaram-se quatro leituras em cada amostra (n=8) e os valores de Ra foram estatisticamente analisados. A V7 mostrou maior lisura de superfície do que VA e, não houve diferença estatística entre os valores médios de rugosidade das cerâmicas contendo alto conteúdo cristalino (IA, IZS, IZB).

Kou et al. (2006) avaliaram em MEV a rugosidade superficial de 5 diferentes cerâmicas para infraestrutura: Vita In-Ceram Alumina, Vita In-Ceram Zircônia, IPS Empress 2, Procera All Ceram e Denzir. Para o acabamento superficial foram utilizadas pontas diamantadas de diferentes granulações em sequência: média (107 a 126  $\mu\text{m}$ ), fina (76  $\mu\text{m}$ ) e extrafina (46  $\mu\text{m}$ ). Em seguida, foi realizado polimento com discos Sof-lex com granulações de 100, 29, 14 e 5  $\mu\text{m}$ , sucessivamente. Antes do acabamento, Procera All Ceram e Denzir apresentaram superfície mais lisa, enquanto IPS Empress 2 mostrou-se mais rugosa. Após o acabamento, todos os materiais, exceto IPS Empress 2, tornaram-se mais rugosos. O polimento com disco Sof-lex apresentou melhor acabamento, sem diferença significativa entre Denzir, Vita In-Ceram Alumina e IPS Empress 2 ou entre Procera Allceram e In-Ceram Zirconia. Não houve diferença significativa entre os grupos Procera All Ceram ou In-Ceram Alumina. As cerâmicas Denzir, IPS Empress 2 e In-Ceram Zirconia apresentaram superfície mais lisa após o desgaste, enquanto o efeito do polimento

em Procera All Ceram e In-Ceram Zirconia não foi efetivo. Os resultados revelaram que um sistema de polimento impregnado com diamantes produz superfícies mais lisas do que discos flexíveis.

## **2.2 Influência das propriedades de superfície na adesão bacteriana**

A aderência *in vitro* de *Streptococcus oralis* sobre resina composta (Palfique Light) e a mensuração da rugosidade superficial do material foram analisadas por Yamamoto et al. (1989). Amostras da resina composta foram confeccionadas e polidas com lixas de papel de diferentes granulações, obtendo-se rugosidades superficiais entre 0,2 e 3,0  $\mu\text{m}$ . As amostras foram imersas em suspensão de 10<sup>8</sup> cel/ml radiomarcadas e incubadas por duas horas a 37°C em condições de anaerobiose. Após avaliação da aderência de *Streptococcus oralis*, as amostras foram lavadas, fixadas e desidratadas para serem examinadas em MEV. A aderência bacteriana variou de 9,85 a 9,28 x 10<sup>6</sup> células/amostra, para as mais rugosas e menos rugosas, respectivamente. Não foi observada relação entre aderência de *S. oralis* e rugosidade superficial. Na análise em MEV, foi observado que fímbrias facilitaram a aderência das bactérias às partículas de carga da resina composta nas amostras com rugosidade de 0,2  $\mu\text{m}$ .

Takatsuka et al. (2000) estudaram a aderência *in vitro* de cepas de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus*

*sanguis* e *Streptococcus sobrinus* ao esmalte dentário humano, cerâmica (Cerec 2 Vitablocs Mark II) e cimento resinoso. Amostras dos materiais foram confeccionadas e receberam os mesmos procedimentos de acabamento e polimento. Após a imersão em saliva artificial por 60 minutos a 37° C, as amostras foram lavadas em água destilada. O teste de aderência na presença de saliva foi realizado e observou-se que a aderência dos microrganismos testados diminuiu na presença de saliva, exceto a aderência de *S. sanguis* ao esmalte que não foi alterada. Nas amostras avaliadas sem presença de saliva, verificou-se maior aderência de *S. mitis*, *S. oralis* e *S. sobrinus* no esmalte seguido pela cerâmica e cimento resinoso. Já para o *S. sanguis*, maior aderência ocorreu no cimento resinoso seguido pelo esmalte e cerâmica.

### **2.3 Formação *in situ* do biofilme dentário em materiais restauradores**

Lie (1979) estudou a morfologia do biofilme dentário formado sobre amostras de hidroxiapatita, em 6 indivíduos com adequada higiene bucal, por meio de MEV. Após 2 horas no ambiente bucal, as amostras de hidroxiapatita apresentaram-se cobertas por fina película. Bactérias foram regularmente visualizadas após 4 e 6 horas, sendo células individuais ou pequenos agregados de células com mesma morfologia. As primeiras bactérias foram cocos gram positivos, mas

bastonetes curtos também foram encontrados. A película apresentou-se com aspecto globular, granular ou fibrilar. O modo mais frequente de adesão dos microrganismos foi pelo contato direto da parede celular bacteriana com a película. Bactérias também foram visualizadas a alguma distância da superfície da película, mas com finas fibrilas entre a parede celular e a película. Microrganismos também foram observados totalmente embebidos na película. Pequenas irregularidades na superfície do dispositivo de resina epóxica utilizado para fixação das amostras de hidroxiapatita foram rapidamente cobertas por material similar ao da película, e nas irregularidades mais amplas, colonização bacteriana foi observada. Caracteristicamente, as bactérias apresentam-se mais densamente agrupadas nesses defeitos quando comparadas às áreas lisas.

De Wet e Ferreira (1980) avaliaram a formação do biofilme dentário sobre resina composta não glazeada, glazeada ou polida. Amostras padronizadas de resina composta foram confeccionadas e divididas em grupos de acordo com o tipo de acabamento e glaze: 1) polimerizada sobre placa de vidro; 2) polida com ponta diamantada; 3) glazeadas com Adaptic Glaze; 4) glazeadas com Concise Enamel Bond; 5) glazeadas com Nuval-Seal; 6) glazeadas com Finite. Em seguida, uma amostra de cada grupo foi selecionada e submetida à escovação manual com escova dental nova e dentifrício por 500 e 5000 ciclos. A rugosidade superficial das amostras submetidas ou não à escovação foi examinada. Avaliação da formação de biofilme *in situ*, foi realizada em 100 pacientes com restaurações classe IV. A superfície vestibular do dente restaurado foi dividida em duas partes,

sendo A – glazeada e B – não glazeada. A presença ou ausência de placa foi avaliada em 3 meses, 6 meses e 1 ano. Também foi realizada a comparação da formação de placa em um paciente que permaneceu sem realizar higiene bucal por 10 dias. Os resultados demonstraram que amostras glazeadas apresentaram média de rugosidades superficiais menores quando comparadas às amostras não glazeadas. Superfícies cobertas pelo glaze Finite foram significativamente mais rugosas do que as superfícies cobertas pelos outros glazes, polidas ou polimerizadas sobre placa de vidro. Após 5000 ciclos de escovação, os glazes Concise Enamel Bond e Nuval-Seal apresentaram maior rugosidade superficial. O mesmo foi observado na superfície da resina composta que foi polimerizada sobre placa de vidro. *In situ*, foi observada pouca evidência de acúmulo de biofilme sobre superfícies glazeadas (parte A). Nas superfícies não glazeadas (parte B), a quantidade de biofilme aderido foi significativa. Quantidades similares de biofilme formaram-se sobre os diferentes glazes, exceto para o glaze Finite que apresentou maior quantidade de biofilme depositado após 3 meses.

Para Brex et al. (1983), o crescimento do biofilme pode ser resultado da proliferação da bactéria sempre presente no dente e/ou de uma contínua deposição de bactérias adicionais da saliva. Assim, propuseram estudar a relativa significância desses 2 mecanismos. Durante 4, 8 e 24 horas, o biofilme foi formado em filmes plásticos colocados da superfície vestibular de pré-molares. Filtros que recobriam esse filme plástico permaneceram por 4 ou 20 horas. Após a remoção, as amostras foram analisadas em MEV. Após 4 horas, o

filme plástico estava recoberto por material acelular, ou bactéria, células epiteliais e leucócitos. Após 8 horas, as amostras apresentavam a mesma arquitetura, mas contendo maior quantidade de componente celular. Em 24 horas, a placa consistiu de múltiplas camadas de bactérias. Os dados indicaram que o número de bactérias aumentou entre 4 e 8 horas e que não houve diferença no seu número comparando as amostras de 8 horas com e sem filtro. Os resultados indicaram que a proliferação da massa de bactérias no dente aumentou durante a formação inicial de placa, ou seja, entre 8 e 16 horas.

A colonização bacteriana foi avaliada *in situ* sobre superfície da cerâmica de Y-TZP e do titânio, por Rimondini et al., em 2002. Para o estudo, 10 indivíduos com bom padrão de higiene bucal foram selecionados. Um dispositivo de silicone foi desenvolvido para a fixação das amostras na região de molar e pré-molar na face vestibular superior, utilizado por 24 horas, sendo que nenhum procedimento de higiene bucal foi realizado durante seu uso. A seguir, as amostras foram removidas e processadas, para análise em MEV. Cinco campos (20 x 25µm) foram aleatoriamente selecionados de modo que uma área total de 100 x 125µm foi avaliada em cada amostra. Para cada área visualizada, as variáveis registradas foram: presença (=1), ou ausência (=0) de cocos, bastonetes curtos (menores que 10 µm) e bastonetes longos (maiores que 10 µm). *Streptococcus mutans* aderiu mais à cerâmica de Y-TZP quando comparado ao titânio, enquanto *S. sanguis* pareceu aderir mais facilmente ao titânio. Nenhuma diferença foi observada quanto à adesão de *Porphyromonas gingivalis* e *Actinomyces*. Amostras de Y-TZP acumularam menor quantidade de

bactéria; a superfície de titânio teve prevalência de cocos, poucos bastonetes curtos e nenhum bastonete longo, sugerindo uma formação imatura de placa. O polimento da Y-TZP não foi estatisticamente significativo com relação à diminuição de microrganismos formados. Portanto, Y-TZP pode ser considerado um material promissor na confecção do intermediário de pilares protéticos.

Scotti et al. (2006), com o objetivo de avaliar o efeito do procedimento de polimento da superfície cerâmica, compararam a cerâmica de Y-TZP glazeada e polida com relação colonização bacteriana inicial. Sendo assim, 20 amostras, em forma de discos, foram confeccionadas. Um dispositivo fixado em pré-molares e molares foi confeccionado para cada um dos 2 voluntários, com alto nível de higiene bucal. Amostras da cerâmica polida e glazeada foram fixadas no dispositivo por vestibular e lingual. Após 20 minutos e 1 hora, as amostras foram removidas do meio bucal e imediatamente processadas para análise em MEV. As amostras glazeadas mostraram maior irregularidade do que amostras polidas. Deposição de material granular foi verificada em todas as amostras, nos dois períodos analisados. O material granular recobriu mais intensamente as áreas irregulares e essa espessura aumentou após 1 hora, momento no qual também se notou maior material depositado em amostras fixadas na região vestibular comparadas às da lingual. Não houve diferença em relação à morfologia bacteriana em nenhum tempo do estudo. Bactérias em forma de cocos e bastonetes prevaleceram. A superfície glazeada mostrou maior tendência ao acúmulo de placa.

Scotti et al. (2007) avaliaram o efeito da superfície glazeada e polida da cerâmica de Y-TZP (Lava System - 3M ESPE), bem como o efeito da remoção das bactérias aderidas. Dois voluntários utilizaram o dispositivo com amostras polidas e glazeadas fixadas do lado direito e esquerdo. Após 20 minutos, 1 hora e 6 horas, os voluntários realizaram a escovação de ambos os lados do dispositivo. As amostras foram analisadas em MEV. O material granular foi verificado nas amostras especialmente nas superfícies irregulares. Após 1 hora, não houve diferença estatística entre a superfície glazeada (Glaze G-4040-3M ESPE) e a superfície polida com disco de borracha, por 10 s (3-Step Silicon - Silishine LC), com relação à presença de bactérias. Entretanto, a superfície glazeada mostrou maior acúmulo de biofilme e a escovação não o removeu completamente. Superfícies polidas podem ter tendência a acumular menos biofilme.

Pereira et al. (2008) avaliaram *in situ* a colonização bacteriana inicial em cerâmicas feldspáticas submetidas a diferentes glazeamentos. Utilizando as cerâmicas feldspáticas VM7 e VM13 (Vita), foram confeccionadas 28 amostras (24 para análise do biofilme e 4 para análise da topografia da superfície). As amostras foram submetidas a 2 diferentes métodos de glazamento e foram divididas em 4 grupos: VM7 com aplicação do glaze Vita Akzent (G1), VM7 com autoglaze superficial (G2), VM13 com aplicação do glaze Vita Akzent (G3), VM13 com autoglaze superficial (G4). Seis indivíduos com boa saúde bucal utilizaram 1 dispositivo por 8 horas, com as 4 amostras fixadas. As amostras foram analisadas em MEV utilizando-se 5 campos (20 x 25 µm) que foram aleatoriamente selecionadas de



modo que uma área total de 100 x 125 µm foi avaliada em cada amostra. O valor de cada amostra foi somado para chegar ao resultado final. Uma amostra de cada grupo foi analisada em MEV para observar o padrão de topografia. Foi encontrada diferença com relação à colonização bacteriana entre as cerâmicas feldspáticas e entre os tipos de glaze utilizados. O padrão de topografia da superfície da cerâmica mostrou ter influenciado a colonização bacteriana.

#### **2.4 Análise do biofilme em microscopia confocal laser**

Heydorn et al. (2000) descreveram o programa COMSTAT, e avaliaram a organização estrutural de 4 comunidades microbianas por esse programa, que compreende 10 ferramentas para a quantificação das imagens do biofilme em 3D de 4 espécies bacterianas (*Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas fluorescens* e *Pseudomonas aeruginosa*), as quais foram codificadas com uma proteína fluorescente verde. Na análise pelo programa COMSTAT, utilizaram-se 4 variáveis para descrever a estrutura do biofilme: média de espessura, rugosidade, recobrimento do substrato e a razão da superfície pelo volume. Essas variáveis mostraram que as 4 espécies apresentam diferentes modos de crescimento do biofilme.

Wood et al. (2000) avaliaram em MCVL, o biofilme formado em dois dispositivos de nylon em forma de anel fixados por resina no

segundo molar superior nos lados direito e esquerdo de 8 voluntários, que os utilizaram durante 4 dias. Observou-se que a placa formada no dispositivo foi mais espessa na junção entre o nylon e o esmalte do que no centro do dispositivo. A luz refletida nas imagens mostradas no MCVL mostrou uma estrutura heterogênea em todo o biofilme. Isso contrastou com as imagens vistas em MEV, as quais sugeriam uma estrutura mais compacta. O biofilme corado com fluorescência pode sugerir que o biofilme é repleto de muitos vasos.

Brentel (2007) avaliou rugosidade superficial, hidrofobicidade e formação *in situ* do biofilme dentário em cerâmica feldspática micro-particulada. Amostras padronizadas da cerâmica foram confeccionadas e divididas em 4 grupos conforme o sistema de acabamento e polimento empregado: glaze (G1); glaze e broca diamantada (G2); glaze, broca diamantada e pontas de borracha (G3); glaze, broca diamantada, ponta de borracha e disco de feltro impregnado com pasta diamantada (G4). Rugosidade superficial foi avaliada antes e após os procedimentos de acabamento e polimento estabelecidos para cada grupo. O ângulo de contato da água deionizada foi avaliado em goniômetro. Dez pacientes usaram dispositivo bucal com amostras dos diferentes grupos durante 8 h. Decorrido o período experimental, o biofilme foi analisado em microscopia confocal laser (n=10, biovolume e espessura média do biofilme) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (n=5). A rugosidade superficial foi significativamente diferente nos 4 grupos, sendo a ordem crescente de rugosidade  $G1 < G4 < G3 < G2$ . Em relação ao ângulo de contato, G1 apresentou a maior

hidrofobicidade, não havendo diferenças entre os demais grupos. G1 e G4 foram semelhantes e apresentaram os menores valores de espessura média e biovolume do biofilme. G2 e G3 apresentaram os maiores valores de espessura média e biovolume sendo similares. Correlação positiva foi verificada entre rugosidade superficial e formação de biofilme *in situ*. As observações em MEV indicaram cocos isolados e diplococos em G1 com pouco material acelular. Em G2, presença de maior número de bactérias aderidas às amostras foi verificada. Em G3, foi verificado material fibrilar com cocos e bastonetes curtos constituindo colônias na superfície. Em G4, as amostras foram recobertas por material granular com poucos cocos isolados aderindo à superfície.

De Fúcio et al. (2008) avaliaram os efeitos da interação do biofilme de *Streptococcus mutans*/materiais restauradores sobre a rugosidade superficial, a dureza e a morfologia de Empress 2 (E2), Filtek Supreme (FS), Vitremer (V) e Ketac Molar Easymix (KM). Foram feitos 25 discos de cada material e divididos em 3 meios do armazenamento: (1) 100% de umidade relativa (n = 5); (2) crescimento médio (BHI e 1 % de sacarina) (n = 5); (3) Biofilme de *S. mutans* de crescimento médio (n = 15). Antes da armazenagem, foram obtidas imediatamente medidas da dureza eram de (1). Após 30 dias de armazenamento, as amostras foram limpas para se obter valores de rugosidade superficial e dureza, além da análise da morfologia em microscopia eletrônica de varredura. Resultados: Os valores de rugosidade superficial e dureza obtidos em E2 e FS não apresentaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos 1, 2 e 3; e entre os

grupos imediatos e envelhecidos de cada material. Entretanto, os espécimes do grupo (3) de V e de KM apresentaram diferenças estatísticas com para valores de rugosidade superficial mais elevados. Amostras do grupo 1 de V e KM apresentaram maiores valores de dureza do que os valores imediatos. Amostras do grupo 3 de V apresentaram menores valores de dureza comparados com outros grupos. As micrografias mostraram um aumento na degradação superficial do grupo 1 para o grupo 3 para o FS, o V e KM. Após 30 dias, o biofilme promoveu um efeito negativo na morfologia de superfície de FS, do V e KM, na rugosidade superficial de V e KM, e na dureza de V.

## **2.5 Efeito da escovação simulada em materiais restauradores**

Aker et al. (1980) avaliaram o efeito da abrasão ocasionada pela escovação em três cerâmicas dentais (Vita VMK, Biobond e Ceramco). Amostras dos materiais foram confeccionadas, seguindo as recomendações dos fabricantes, e divididas em três grupos conforme aplicação de pigmento e métodos de cocção: G1) pigmento aplicado e cocção na temperatura recomendada para o autoglaze, seguida de uma camada de glaze e cocção na temperatura recomendada para glaze; G2) pigmento aplicado e cocção na temperatura recomendada para autoglaze por 3 minutos sem vácuo; G3) cerâmica autoglazeada na temperatura recomendada por 3 minutos, seguido da aplicação do

pigmento e cocção na temperatura recomendada. As escovas dentais e as amostras dos materiais foram adaptadas a uma máquina simuladora de escovação contendo solução de dentifrício/água (1:1). As amostras foram submetidas à escovação a velocidade de 66 ciclos/min, sob carga de 450 g. Avaliação da abrasão foi realizada após 6 horas do início do experimento e a cada hora subsequente. Escovas e solução de dentifrício foram trocadas a cada 15 horas. Os autores observaram que a escovação associada à solução de dentifrício removeu a camada de pigmento das superfícies das amostras. Para as amostras de G1, o tempo necessário para remover o pigmento foi maior do que em G2 e G3. Os outros 2 métodos (G2 e G3) foram estatisticamente similares.

Tanoue et al. (2000) avaliaram a influência da escovação no desgaste abrasivo e na rugosidade superficial de resinas compostas indicadas para coroas, prótese parciais fixas, *inlays e onlays*. Foram avaliadas 7 resinas compostas (Artglass, Axis, Cesead II, Conquest Sculpture, Estenia, Infis e Targis) e um material cerâmico usinável (Cerec 2 Vitablocs) foi utilizado como controle. Amostras padronizadas dos materiais foram confeccionadas conforme recomendações dos fabricantes e a seguir, foram desgastadas e polidas para produzir superfícies lisas e uniformes. As amostras foram submetidas ao teste de escovação (20.000 ciclos, 140 ciclos/min., com carga de 350g) associada à solução de dentifrício (1:1) contendo abrasivos de hidróxido de alumínio. A rugosidade superficial e a quantidade de perda vertical (desgaste) de cada amostra foram determinadas em rugosímetro. Os autores observaram que os materiais Targis e Estenia foram mais resistentes que as demais resinas; já

Artglass e Conquest Sculpture foram os menos resistentes, apresentando maior abrasão. Dentre as resinas, a Conquest Sculpture apresentou a menor rugosidade e o Cesead II apresentou a maior rugosidade. O material cerâmico controle (Cerec) apresentou significativamente menor rugosidade e desgaste comparado aos outros materiais.

Garcia et al. (2004) estudaram a perda de massa e as alterações de rugosidade superficial de compósitos após escovação simulada com dentifrício. As seguintes resinas compostas foram testadas: Aeliteflo (Bisco), Flow-It (Pentron), Flow-It LF (Pentron), Natural Flow (DFL), Wave (SDI), Z100 (3M/ESPE), e Silux Plus (3M/ESPE). Amostras padronizadas dos materiais foram confeccionadas, seguindo as recomendações dos fabricantes, as quais foram submetidas a 100.000 ciclos de escovação em máquina simuladora contendo solução de dentifrício/água (1:2), sob carga de 200g e velocidade de 374 ciclos/min. Antes e após o teste de escovação, as amostras foram avaliadas quanto ao peso em balança analítica (0, 0001g) e quanto à rugosidade em rugosímetro. Quanto à perda de massa, todas as resinas testadas apresentaram diferença significativa entre o peso inicial e o peso final, com exceção a Flow-It LF, entretanto, não houve diferença estatística entre os materiais. Quanto à rugosidade superficial, todos os materiais apresentaram-se mais rugosos após escovação. Aeliteflo e Natural Flow não apresentaram diferença estatística entre a rugosidade inicial e final. A resina Wave foi a única que apresentou diferença estatística na rugosidade final comparada com os outros materiais, apresentando-se mais rugosa.

### 3. PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito da escovação simulada em amostras de cerâmica de Y-TZP, após os processos de vitrificação e polimento, quanto à:

- ✓ Rugosidade superficial;
- ✓ Formação de biofilme inicial *in situ*.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados, bem como suas respectivas composições e fabricantes, estão apresentados na tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 – Materiais utilizados nos experimentos.

<b>MATERIAL</b>	<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>FABRICANTE</b>
<b>Cercon®Zirconia</b>	Zircônia estabilizada parcialmente por ítria	DENTSPLY Ceramco, EUA
<b>Disco diamantado dupla face</b>	Partículas de diamante	Microdont, Brasil
<b>Glaze Vita Akzent 26</b>	Vítrea	Vita Zahnfabrik, Alemanha
<b>Pontas de silicone diamantadas Exa Cerapol</b>	Grânulos diamantados (grossa, fina e extrafina)	Edenta, Suíça
<b>Oral B® Indicator® Plus</b>	Escovas dentárias	Procter & Gamble, Brasil
<b>Oral B® 1 2 3</b>	Pasta de dente	Procter & Gamble, Brasil
<b>Elite LC Tray</b>	Resina acrílica fotoativada	Zhermack®, Itália



#### **4.1 Confeção das amostras em cerâmica**

Noventa amostras de cerâmica de zircônia estabilizada parcialmente por ítrio (Y-TZP) foram seccionados sob irrigação, nas dimensões de 7,5 x 7,5 x 2,5 mm, com disco diamantado 34570 (Microdont), a partir de cinco blocos pré-sinterizados de Cercon® Zirconia (DENTSPLY Ceramco, Burlington, EUA). Após a regularização com lixa de granulação 600 e a sinterização em forno Cercon Heat, seguindo o ciclo recomendado pelo fabricante, os blocos apresentaram as dimensões aproximadas de 5 X 5 X 2 mm, devido à contração de 20 a 25 % que ocorre no processo de sinterização.

As amostras foram planificadas e receberam acabamento com lixas d'água de granulação 320, 400, 600 e 1200 (3M do Brasil Ltda, Sumaré, Brasil), durante 1 minuto em cada uma.

#### **4.2 Grupos experimentais**

As amostras foram aleatoriamente divididas em três grupos experimentais, tendo como grupo controle a ausência de tratamento. Cada grupo foi submetido a uma das seguintes técnicas:

Grupo C (controle): amostras sem tratamento;

Grupo V: amostras vitrificadas;

Grupo PS: amostras polidas com ponta de silicone diamantadas.

As amostras foram vitrificadas, em forno Vacumat 40, usando glaze Vita Akzent 26 (Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha) (Figura 1A), segundo o ciclo recomendado pelo fabricante (Tabela 2). As amostras receberam uma camada uniforme do material a fim de se evitar excessos e incorporação de bolhas.

Tabela 2 - Ciclo para aplicação do glaze Vita Akzent

Temperatura Inicial	Tempo de secagem	Temperatura de aquecimento (°C/min)	Tempo de aquecimento	Temperatura final	Tempo
500 °C	04 min	80	05 min 07 s	910 °C	01 min

O polimento das superfícies cerâmicas foi realizado com pontas de silicone diamantadas (Edenta, Hauptstrasse, Suíça): 1ª Fase (Cinza clara, Granulação grossa); 2ª Fase (Rosa, Granulação médio-grossa); 3ª Fase (Cinza escuro, Granulação superfina) (Figura 1B). O procedimento foi realizado por único operador com as amostras presas entre os dedos com tempo de acabamento padronizado de 10 segundos desenvolvendo movimentos circulares a 8.600 rpm.

As amostras serão analisadas em grupos com e sem presença de escovação; amostras para análise em MEV e análise em MCVL (Figura 2).



Figura 1 – Material para aplicação de (A) Vitrificação; (B) Polimento com pontas de silicone diamantadas.

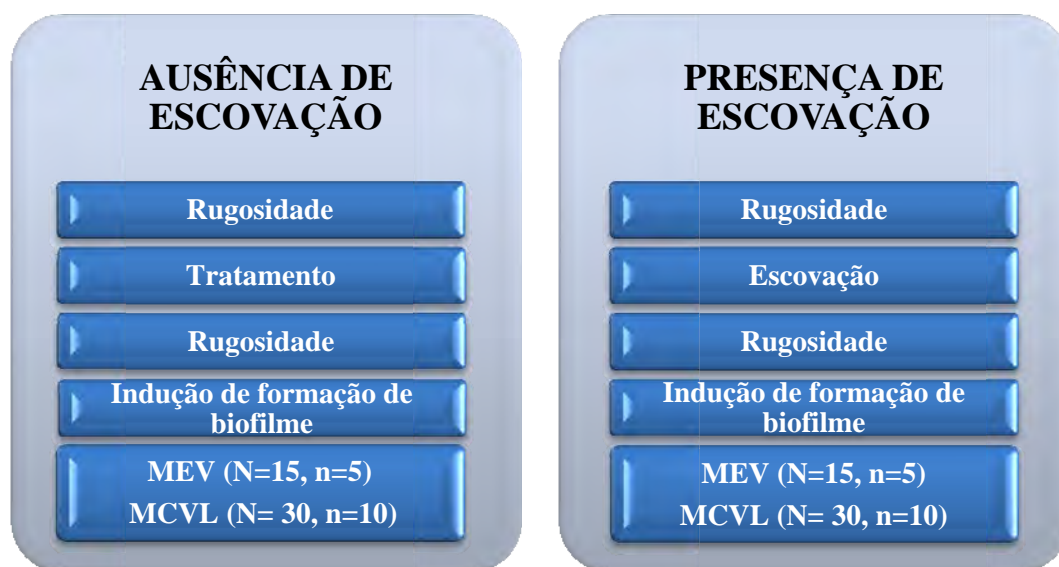


Figura 2 – Análises realizadas em ausência e em presença de escovação.

## **4.3 Análises realizadas**

### **4.3.1 Análise da rugosidade superficial**

Para os grupos em que houve simulação da escovação, a análise da rugosidade foi realizada antes e após este procedimento.

Para os grupos com ausência de escovação, a rugosidade superficial foi analisada antes e após os procedimentos de vitrificação e polimento.

A análise quantitativa da rugosidade superficial foi realizada com ponta analisadora em rugosímetro Mitutoyo SJ 400 (Mitutoyo, Tóquio, Japão) por um único examinador treinado, utilizando-se os parâmetros: Ra (rugosidade média), que corresponde à média aritmética dos valores absolutos das ordenadas de afastamento (picos e vales) em relação à linha média dentro do percurso de medição; e Rz (rugosidade de profundidade média) que corresponde à média aritmética dos valores absolutos das ordenadas dos pontos de maior afastamento, acima e abaixo da linha média.

Para a fixação das amostras durante as leituras da ponta analisadora, as amostras foram posicionadas sobre fita adesiva dupla-face (Scotch- 3M, Brasil) (Figura 3A).

Quatro mensurações foram realizadas sobre a superfície das amostras; duas medidas em uma direção, e duas medidas em direção perpendicular as primeiras (1 mm de distância entre cada medida). A

ponta do rugosímetro realizou percurso de 3 mm (Figura 3B). Um valor médio para cada amostra foi obtido a partir das quatro medidas. A seguir, foi obtida a média de cada grupo.

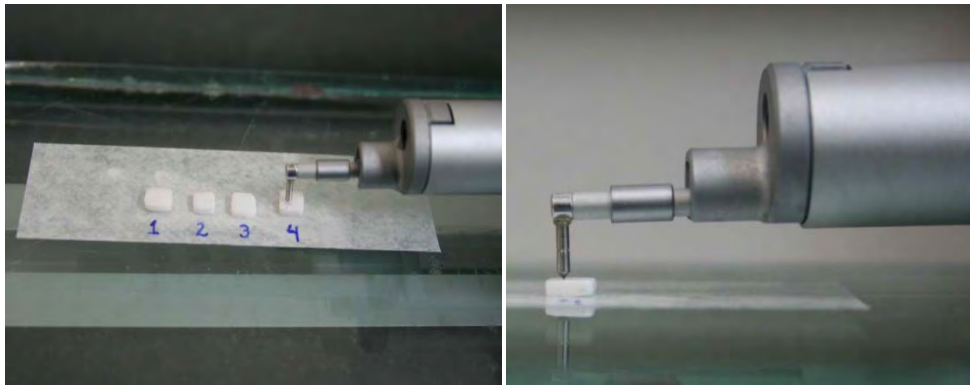


Figura 3 - (A) Fixação das amostras em fita adesiva dupla-face; (B) Percurso da ponta do rugosímetro de 3 mm.

#### 4.3.2 Simulação da escovação

Para simulação da escovação foi utilizada a Máquina Simuladora de Escovação “Smile” da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos (FOSJC-UNESP).

Para a fixação das amostras na máquina simuladora de escovação, foi confeccionado um dispositivo em resina acrílica contendo orifícios padronizados com o tamanho das amostras (Figura 5A). As amostras foram posicionadas nos orifícios e fixadas à resina acrílica com adesivo cianoacrilato de etila (Super Bonder®, Loctite, São Paulo, Brasil). O dispositivo em resina foi adaptado à máquina, sendo o conjunto submerso em uma cuba pertencente ao corpo da

máquina simuladora de escovação (Figura 4B). Esta cuba foi utilizada para conter a solução de dentifrício/água destilada (1/2:1) (Yesil Duymus et al., 2003; Wang et al., 2004; Hossain et al., 2006; Hossain et al., 2007).



Figura 4 - (A) Dispositivo em resina acrílica confeccionado para escovação; (B) Dispositivo acoplado em cuba da máquina de escovação.

Escovas dentárias (Oral B<sup>®</sup> Indicator<sup>®</sup> Plus, tamanho 35, Procter & Gamble, São Paulo, Brasil) foram adaptadas à máquina simuladora e realizaram movimentos lineares sob carga axial de 200g. O dentifrício utilizado foi Oral B<sup>®</sup> 1 2 3 (Procter & Gamble, São Paulo, Brasil) que não possui ação branqueadora.

As amostras foram submetidas a 400.000 ciclos, o que corresponde a aproximadamente três anos de escovação (Hossain et al., 2006, Hossain et al., 2007). A substituição das escovas ocorreu a cada 80 minutos, o que corresponde a três meses de escovação.

### **4.3.3 Análise do biofilme dentário inicial formado *in situ***

#### **4.3.3.1 Seleção dos participantes**

Foram selecionados para o estudo *in situ*, 10 alunos da pós-graduação da FOSJC - UNESP, de ambos os gêneros, com adequado padrão de higiene bucal (sem sinais de cárie, doença periodontal) e sem alterações de fluxo salivar. Foram excluídos indivíduos que apresentaram hábitos relacionados com fumo e álcool, usuários de medicamentos que interferem na secreção salivar e ainda, indivíduos que fizeram uso de antibióticos nos três meses prévios ao início do estudo (Hannig, 1997).

Os participantes foram informados da pesquisa e concordando com sua participação assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A).

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, sob protocolo número 077/2009–PH/CEP, para que seja cumprido integralmente o disposto na Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Anexo 1).

#### **4.3.3.2 Confeção do dispositivo bucal e fixação das amostras**

Inicialmente, os pacientes foram submetidos ao procedimento de moldagem dos arcos superior e inferior, utilizando-se alginate (Jeltrate, Dentsply Ind. e Com. Ltda. Petrópolis, RJ, Brasil) e moldeiras de estoque. Em seguida, foram obtidos 2 modelos (arcos superior e inferior) de cada paciente, em gesso tipo IV (Durone, Dentsply Ind. e Com. Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil), para a confecção de 10 dispositivos personalizados em resina acrílica fotoativada (Elite LC Tray, Zhermack®, Rovigo, Itália). Antes da fotoativação da resina acrílica, as amostras cerâmicas foram submetidas a segunda leitura de rugosidade e posicionadas sobre resina acrílica na face vestibular do dispositivo (três do lado direito e três do lado esquerdo) e o conjunto foi fotoativado por 4 minutos em unidade EDG-Lux (400-500 mW/cm<sup>2</sup>).

O dispositivo recobriu a coroa dos molares e pré-molares superiores. Foi realizado ajuste oclusal do dispositivo em oclusão habitual, nas posições de relação cêntrica e movimentos excêntricos, com fita de carbono, a fim de se estabelecer os pontos de contato oclusais (Figura 5).





Figura 5 - Dispositivo intrabucal em resina acrílica fotoativada com amostras fixadas na face vestibular. (A) vista oclusal; (B) vista frontal.

Uma amostra de cada grupo foi fixada na face vestibular do dispositivo, sendo 3 amostras no lado direito para análise em MEV e 3 amostras do lado esquerdo para análise em MVCL. Dez pacientes utilizaram amostras para análise em MVCL e somente 5 pacientes tiveram em seu dispositivo amostras para análise em MEV, portanto somente 5 pacientes utilizaram as amostras do lado direito.

Após fixação das amostras no dispositivo, o conjunto foi imerso em solução de hipoclorito de sódio 1%, durante 10 minutos para desinfecção química. A ação do hipoclorito de sódio deve-se essencialmente à liberação de cloro ativo, cujo mecanismo de ação consiste na inibição da reação enzimática no interior da célula e produz desnaturação e inativação do ácido nucléico. O processo é realizado a frio, o que o torna viável e vantajoso para materiais sensíveis a elevações de temperatura e umidade, como a cerâmica policristalina de zircônia parcialmente estabilizadas por ítrio. Após o tempo de imersão, o conjunto foi submetido a 3 lavagens em água corrente durante 1 minuto para remoção do excesso da solução.

Para avaliar o biofilme dentário formado sobre as amostras, os participantes usaram o dispositivo bucal por 8 horas, durante o período de sono, o que equivale ao tempo para formação inicial de placa bacteriana e sua proliferação (Brex et al., 1983). Nenhuma ingestão de líquido ou alimentos foi realizada durante o período experimental.

Antes do experimento, os indivíduos realizaram higiene bucal habitual, porém sem o uso de dentifrício, para que não houvesse interferência de substância antimicrobiana na formação do biofilme inicial.

#### **4.3.4 Análise em MEV**

Decorrido o período experimental de 8 horas, as amostras foram removidas do dispositivo e processadas para análise em MEV (Jeol 6460LV, Jeol Ltda, Japão).

Inicialmente, as amostras foram imersas em solução de glutaraldeído 4% tamponado com solução de cacodilato de sódio (pH=7,3) por 24 horas a temperatura ambiente. A seguir, foram lavadas em tampão cacodilato 0,1M e foram desidratadas subsequentemente, por uma série de passagens em concentrações crescentes de álcool etílico (50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%, por 20 minutos cada).

Após 24 horas em temperatura ambiente, as amostras foram fixadas em porta-amostras, usando fita adesiva dupla-face de carbono (SPI, West Chester, , EUA). O microscópio eletrônico de varredura 6460LV (Jeol, Tóquio, Japão) foi operado entre 0,3 kV e 30 kV, modo baixo vácuo - pressão ajustável de 10 a 270 Pa, resolução nominal de 4nm.

Inicialmente, foi realizada análise descritiva do material formado sobre as amostras. Cada amostra foi avaliada de modo a verificar a presença de bactérias isoladas e/ou agregados, morfologia bacteriana e características do material acelular presente.

A seguir, uma área global de 100 x 125  $\mu\text{m}$  foi avaliada sobre cada amostra, quanto à presença e colonização bacteriana, por meio da seleção aleatória de cinco campos de 20 x 25  $\mu\text{m}$  (Rimondini et al., 1997 e 2002).

Duas amostras de cada grupo, não expostas ao ambiente bucal, foram também avaliadas em MEV para verificar a topografia superficial do material com os diferentes sistemas de acabamento e polimento.

#### **4.3.5 Análise em MCVL**

Para essa análise, as amostras também foram mantidas em ambiente bucal durante 8 horas. Sobre uma placa de Petri descartável estéril 90 mm x 15 mm (Prolab, Curitiba, PR, Brasil), foi colada fita

adesiva dupla-face. As amostras foram removidas do dispositivo e fixadas cuidadosamente sobre a fita adesiva, de modo que a superfície a ser analisada estivesse para cima, para que fossem transportadas em segurança (Figura 6A).

As placas com as amostras foram mantidas, em recipiente estéril, preenchido com campo cirúrgico (TNT) e solução salina estéril, para manter a umidade do ambiente, e com isso, a viabilidade bacteriana durante o transporte. O recipiente foi colocado em bolsa térmica com gelo em gel, também com o objetivo de impedir a denaturação das células bacterianas.

As amostras foram coradas utilizando-se o kit Live/ Dead<sup>®</sup> Bac Light<sup>™</sup> Bacterial Viability and Counting (Molecular Probes, Eugene, OR, EUA) (Figura 6B). Esse kit é composto por dois corantes fluorescentes à base de ácido nucléico: o corante SYTO 9<sup>®</sup> de cor verde para a pigmentação das células vivas (quando penetra em células com a membrana celular intacta) e o corante Iodeto de propídeo, de cor vermelha para a pigmentação das células mortas (quando penetra em células com a membrana celular prejudicada).

Os corantes foram dosados utilizando-se micropipeta automática monocanal de volume variável 0,5 a 10 $\mu$ l (Labmate HTL, Waesaw, Polônia) na proporção 4  $\mu$ l de corante para 1 mL de soro fisiológico estéril e cada um foi dispensado em microtúbulo eppendorf estéril. Uma gota de cada solução foi dispensada sobre as amostras (Figura 7C-D). O tempo de ação do corante foi de 15 minutos, em ambiente escuro, segundo recomendações do fabricante. A manipulação do

corante exigiu o uso de equipamento de proteção individual (EPI), já que o iodeto de propídeo é um produto tóxico.

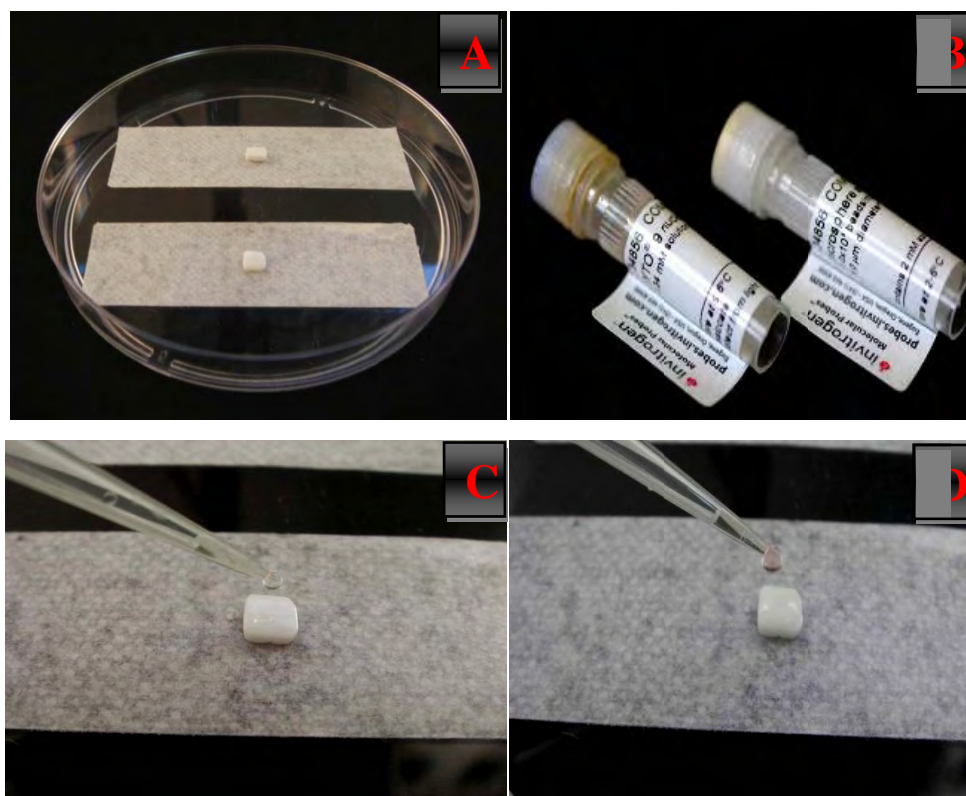


Figura 6 – (A) Amostras sobre fita adesiva dupla-face em placa de petri estéril; (B) Kit Live/ Dead<sup>®</sup> Bac Light<sup>™</sup> Bacterial Viability and Counting (Molecular Probes); (C) Solução de Iodeto de Propídeo; (D) Solução de SYTO 9<sup>®</sup>.

As amostras foram posicionadas sobre lamínula de vidro e analisadas utilizando-se microscópio confocal de varredura a laser (LSM 510 META, Zeiss, Oberkochen Alemanha). A seguir, as amostras foram posicionadas sobre uma lamínula de vidro, de modo a deixar a superfície a ser analisada em contato com a mesma, o que possibilitou a análise do biofilme formado. O comprimento de onda de

luz utilizado para a excitação dos corantes foi de 488 nm, sendo que toda a luz emitida entre 500-550 nm e abaixo de 560 nm foi coletada por diferentes filtros. Foram utilizadas lentes ópticas com aumento de 10 x/ 0.3 para visualização de toda a amostra e lentes ópticas com aumento de 63 x/ 0.3 para análise do biovolume e espessura média de biofilme, para posterior quantificação através do software COMSTAT. Para esta análise, foram realizados “stacks” para formação de imagem 3D, com o número de secções ópticas variável em função da espessura do biofilme acumulado sobre as amostras dos diferentes grupos (média de 0,8 $\mu$ m).

#### **4.3.6 Análise das Imagens e quantificação de propriedades do biofilme por meio do *software* COMSTAT**

Para a quantificação do biofilme inicial, foram utilizadas duas importantes propriedades: espessura média ( $\mu$ m) e biovolume ( $\mu$ m<sup>3</sup>/ $\mu$ m<sup>2</sup>). Essas propriedades foram analisadas através do software COMSTAT.

## **4.4 Análises Estatísticas**

As variáveis respostas analisadas foram duas: a degradação superficial da cerâmica e a formação de biofilme dentário inicial, ambas após simulação de escovação.

A degradação superficial foi avaliada através da alteração da rugosidade superficial. A formação de biofilme dentário inicial foi correlacionada com a alteração da rugosidade superficial.

### **4.4.1 Rugosidade Superficial**

Os dados de rugosidade superficial (Ra e Rz) ( $\mu\text{m}$ ) foram submetidos à análise estatística, segundo a diferença absoluta dos valores (final – inicial).

A análise de resultados foi apresentada em duas partes.

Na primeira parte, realizou-se análise de variância de 2 fatores com o experimento seguindo um esquema fatorial, tipo 2 x 2, em que as duas variáveis experimentais foram: Escovação (2 níveis: Presença e Ausência) e Tratamento superficial (2 níveis: PS e V).

A estatística descritiva (média e desvio padrão) foi aplicada depois da qual foi aplicado o teste de comparação múltipla de Tukey, ambos com  $\alpha=0,05$ .

Na segunda parte, foi efetuado o teste de Dunnett para comparação das quatro condições experimentais, frente aos grupos Controle: Ponta de Silicone e Presença de escovação (PS\_ p); Ponta de Silicone e Ausência de escovação (PS\_ a); Vitrificação e Presença de escovação (V\_ p); Vitrificação e Ausência escovação (V\_ a). O nível de significância adotado para este teste foi convencionado em 5%.

#### **4.4.2 Formação de biofilme dentário inicial**

Os dados de biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) e espessura média ( $\mu\text{m}$ ) do biofilme foram submetidos à estatística não-paramétrica Kruskal-Wallis, Teste de Dunn e Teste de Mann-Whitney.

Em todos os testes estatísticos, foi utilizado o nível de significância de 5%.

Para a análise dos dados obtidos, foram utilizados os programas computacionais STATISTICA (versão 5.5, StatSoft Inc., 2000), MINITAB (Minitab, version 15.1, 2007) e PRISM for windows version 5.0 (Graph PAD Software, Inc., 2007).



## 5. RESULTADOS

### 5.1 Rugosidade superficial

A estatística descritiva (médias e desvio-padrão) dos valores de rugosidade superficial -  $\mu\text{m}$  (Ra e Rz) das cerâmicas submetidas a diferentes tratamentos superficiais, estão apresentados na Tabela 3 (Apêndice B).

Os dados de rugosidade superficial (Ra e Rz) foram submetidos à Análise de Variância de dois fatores com parcela subdividida: escovação e tratamento de superfície (Tabela 4). Observou-se que os fatores escovação e tratamento da superfície não foram estatisticamente significantes para Ra e nem para Rz ( $p > 0,05$ ); entretanto, a interação desses dois fatores apresentou significância estatística para Ra ( $p = 0,0432$ ) e para Rz ( $p = 0,0255$ ).

Tabela 4 – Resultado da Análise de Variância (dois fatores) dos dados de rugosidade superficial (Ra e Rz) ( $\mu\text{m}$ )

RUGOSIDADE SUPERFICIAL	FONTE DE VARIACÃO	gl	SQ	QM	F	P
<b>Ra</b>	<b>Escovação (A)</b>	1	0,00014	0,0001362	1,90	0,1766
	<b>TS (B)</b>	1	0,00030	0,0003014	4,21	0,0476
	<b>A*B</b>	1	0,00031	0,0003147	4,39	0,0432*
	<b>Resíduo</b>	36	0,00258	0,00007165		
	<b>Total</b>	39	0,00333			
<b>Rz</b>	<b>Escovação (A)</b>	1	0,00028	0,00028	0,16	0,6945
	<b>TS (B)</b>	1	0,00139	0,00139	0,77	0,3858
	<b>A*B</b>	1	0,00979	0,00979	5,43	0,0255*
	<b>Resíduo</b>	36	0,06488	0,00180		
	<b>Total</b>	39	0,07633			

\* Significância estatística ( $p < 0,05$ ); TS: Tratamento superficial

Mediante o teste de Tukey (Tabela 5), aplicado para os grupos experimentais estabelecidos pelas variáveis (escovação *versus* tipo de tratamento superficial) foi observado que, na **presença** de escovação simulada, a rugosidade superficial (Ra e Rz) foi maior em amostras vitrificadas (V) do que em amostras polidas com ponta de silicone (PS), porém essa média não apresentou diferença significativa em comparação aos grupos V e PS, na **ausência** de escovação. Na **presença** de escovação, também se observou que PS apresentou o menor valor de rugosidade (Ra e Rz), porém não houve diferença significativa em comparação a PS sem escovação. Já na **ausência** de

escovação simulada, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para os valores de rugosidade (Ra e Rz) (Tabela 5).

Tabela 5- Resultado para o Teste de Tukey para as variáveis: tratamento de superfície *versus* escovação, para resultados de rugosidade superficial -  $\mu\text{m}$  (Ra e Rz)

RUGOSIDADE SUPERFICIAL	ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO SUPERFICIAL	
		Vitrificação	Ponta Silicone
<b>Ra</b>	<b>Ausência</b>	0,008 $\pm$ 0,009 <sup>A, a</sup>	0,008 $\pm$ 0,004 <sup>A, a</sup>
	<b>Presença</b>	0,017 $\pm$ 0,011 <sup>A, b</sup>	0,006 $\pm$ 0,004 <sup>B, a</sup>
<b>Rz</b>	<b>Ausência</b>	0,048 $\pm$ 0,035 <sup>A, a</sup>	0,068 $\pm$ 0,042 <sup>A, a</sup>
	<b>Presença</b>	0,085 $\pm$ 0,049 <sup>A, a</sup>	0,042 $\pm$ 0,038 <sup>B, a</sup>

Letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna representam médias estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ).

As duas condições experimentais estabelecidas pelas variáveis (PS e V) foram comparadas ao grupo controle (amostra sem tratamento superficial) por meio do teste de Dunnett (Tabela 6). Para os valores de rugosidade Rz, na presença e ausência de simulação de escovação, as médias não diferiram do grupo controle. Já para os valores de rugosidade Ra, na ausência de escovação, a média de V difere em relação ao grupo controle ( $p=0,033$ ). Para Ra, na presença de escovação, as médias de PS e de V diferem em relação ao controle ( $p= 0,043$ ).

Tabela 6 – Resultado do Teste de Dunnett - Comparação das médias de rugosidade superficial -  $\mu\text{m}$  (Ra e Rz) dos grupos experimentais em relação ao grupo controle

RUGOSIDADE SUPERFICIAL	ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO SUPERFICIAL		
		Controle	Ponta Silicone	Vitrificação
Ra	Presença	0,043	0,069*	0,066*
	Ausência	0,033	0,038	0,043*
Rz	Presença	0,334	0,382	0,325
	Ausência	0,239	0,251	0,268

\*Difere do controle pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Biofilme Dentário inicial *in situ* em MCVL

O biofilme dentário inicial *in situ* formado sobre as superfícies cerâmicas foi avaliado através da quantificação de duas de suas propriedades: biovolume e espessura média.

Imagens digitais representativas do biofilme sobre as amostras cerâmicas submetidas à diferentes tratamentos superficiais, em MCVL (objetiva de 63x), estão apresentadas na Figura 7. Maior quantidade de biofilme pode ser observada no grupo V, em que quase toda a superfície cerâmica está preenchida por biofilme.

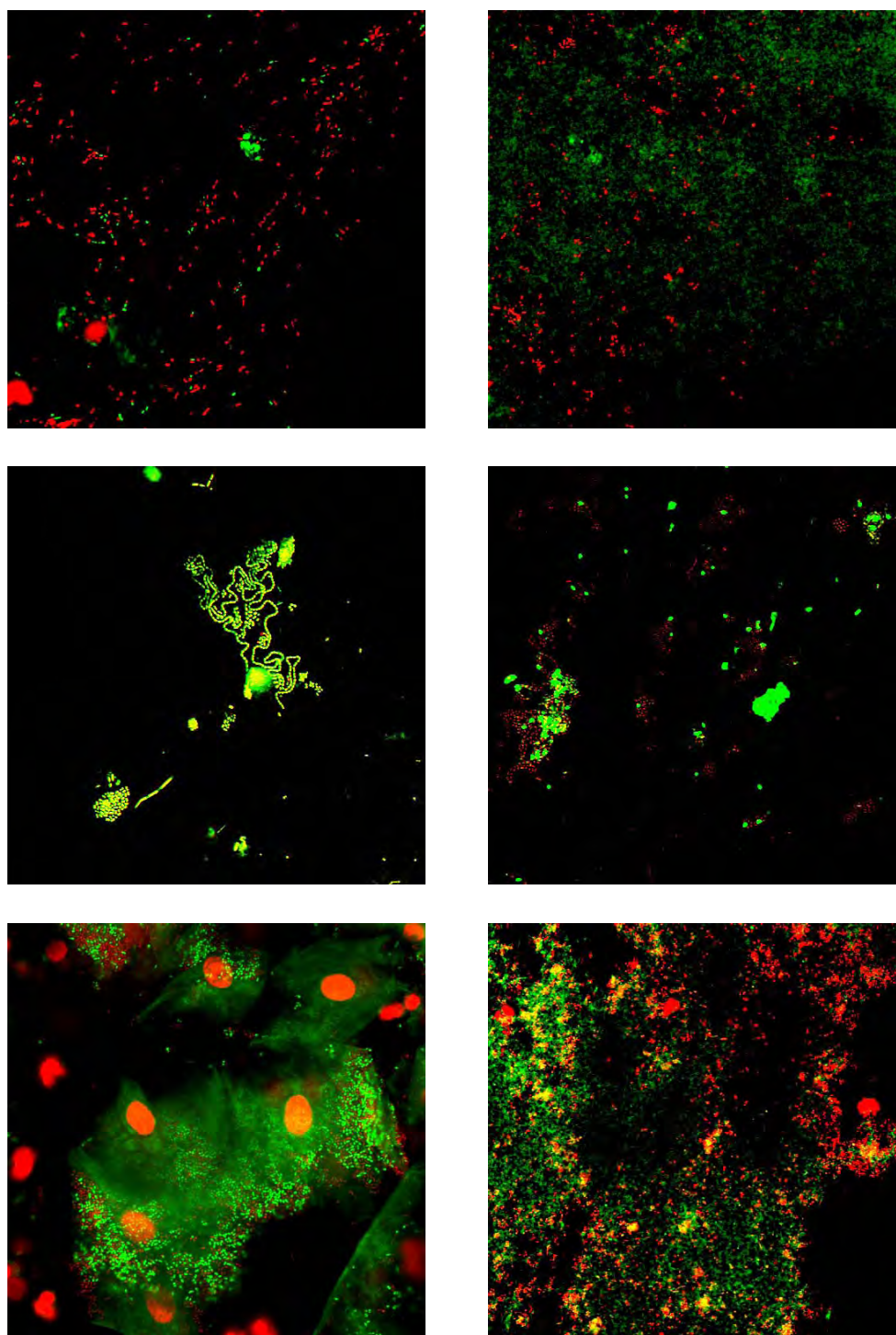


Figura 7 – Imagens digitais representativas (aumento de 63X) do biofilme formado sobre a superfície cerâmica submetida a diferentes tratamentos superficiais, em presença e ausência de escovação: A/a - grupo C, ausência/presença de escovação; B/b - grupo PS, ausência/presença de escovação; C/c – grupo V, ausência/presença de escovação.

### 5.2.1 Biovolume

Os valores médios e desvio-padrão de biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) do biofilme formado sobre as amostras estão apresentados na Tabela 7 (Apêndice B) e representados graficamente na Figura 8.

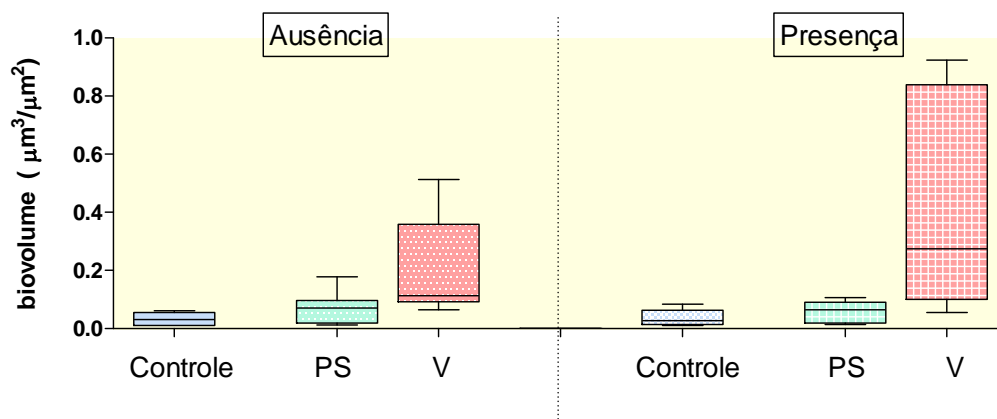


Figura 8 - Esquema dos cinco números (*box-plot*) dos valores de biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) de biofilme obtidos nas condições de ausência e presença de escovação simulada.

Pode-se observar mediante a figura acima que na condição de **ausência** e **presença** de escovação simulada, não há sobreposição das faixas interquartis indicando assim que os valores que correspondem a 50% dos dados não são os mesmos.

Para esta análise, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos experimentais

(Tabela 6). O teste indicou que a distribuição desses valores entre as três condições experimentais difere estatisticamente ( $kW = 13,360$ ;  $gl = 2$ ;  $p\text{-valor} = 0,0013 < 0,05$ ), em **ausência** de escovação simulada, e em **presença** ( $kW = 12,265$ ;  $gl = 2$ ;  $p\text{-valor} = 0,0022 < 0,05$ ).

Tabela 6 – Resultado do Teste de Kruskal-Wallis - Comparação entre os grupos experimentais para valores de biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) de biofilme

	ESCOVAÇÃO	gl	kW	p-valor
<b>BIOVOLUME</b>	<b>Presença</b>	2	12,265	0,0022*
	<b>Ausência</b>	2	13,360	0,0013*

\* Significância estatística ( $p < 0,05$ );

O teste de comparação múltipla de Dunn (5%), aplicado para verificar as diferenças entre os grupos experimentais, tanto em **ausência** quanto em **presença** de escovação, indica que o tratamento PS não difere do grupo Controle e, ainda, que o grupo V difere de Controle (Tabela 7).

Tabela 7 – Resultado do Teste de Dunn - Comparação entre os grupos experimentais para valores de biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) de biofilme

ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO	POSTO MÉDIO	MEDIANA	GRUPOS HOMOGÊNEOS	
<b>Presença</b>	<b>Vitrificação</b>	19,375	0,275	A	
	<b>Ponta Silicone</b>	10,275	0,0649	B	
	<b>Controle</b>	7,375	0,0269	B	
<b>Ausência</b>	<b>Vitrificação</b>	19,250	0,113	A	
	<b>Ponta Silicone</b>	11,875	0,070	A	B
	<b>Controle</b>	6,375	0,031	B	

Quando se compara, em cada tratamento, a distribuição dos valores na **ausência** e **presença** de escovação, mediante o teste de Mann-Whitney, pode-se verificar que, apenas para o grupo Controle há diferença significativa. Neste caso, há uma redução do valor da mediana (ausência = 0,031 e presença = 0,026).

### 5.2.2 Espessura média

Os valores médios e desvio-padrão de espessura média ( $\mu\text{m}$ ) do biofilme formado sobre as amostras estão apresentados na Tabela 8 (Apêndice B) e representados graficamente na Figura 9.

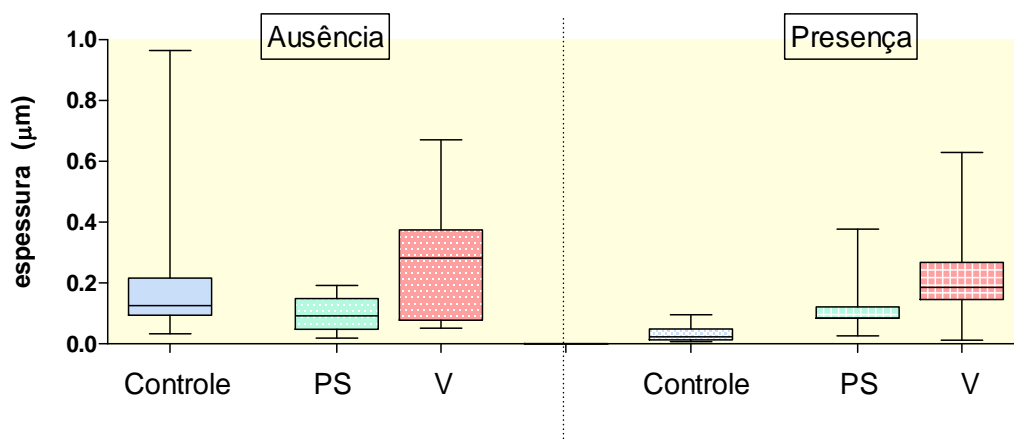


Figura 9 - Esquema dos cinco números (*box-plot*) dos valores de espessura média ( $\mu\text{m}$ ) de biofilme obtidos nas condições de ausência e presença de escovação simulada.

Quanto à condição de **ausência** de escovação simulada, pode-se observar, mediante a figura acima, que há sobreposição das faixas



interquartis, indicando assim que os valores que correspondem a 50% dos dados são os mesmos.

Para esta análise, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos experimentais (Tabela 9). O teste indicou que os valores entre as três condições experimentais não diferem estatisticamente ( $kW = 4,515$ ;  $gl = 2$ ;  $p\text{-valor} = 0,1046 > 0,05$ ).

Quanto à condição de **presença** de escovação, não há sobreposição das faixas interquartis indicando, assim, que os valores que correspondem a 50% dos dados não são os mesmos. O teste de Kruskal-Wallis indica que a distribuição desses valores entre as três condições experimentais diferem estatisticamente ( $kW = 11,18$ ;  $gl = 2$ ;  $p\text{-valor} = 0,0037 < 0,05$ ).

Tabela 9 – Resultado do Teste de Kruskal-Wallis - Comparação entre os grupos experimentais para valores de espessura média ( $\mu\text{m}$ ) de biofilme

	ESCOVAÇÃO	gl	kW	p-valor
<b>ESPESSURA MÉDIA</b>	<b>Presença</b>	2	11,18	0,0037*
	<b>Ausência</b>	2	4,515	0,104

\*Significância estatística ( $p < 0,05$ );

O teste de comparação múltipla de Dunn (5%), aplicado para os valores em presença de escovação ( $p < 0,05$ ), indica que o tratamento PS não difere do Controle e do V e ainda que, V difere do Controle (Tabela 10).

Tabela 10 – Resultado do Teste de Dunn - Comparação entre os grupos experimentais para valores de espessura média ( $\mu\text{m}$ ) de biofilme, em presença de escovação ( $p < 0,05$ )

ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO	POSTO MÉDIO	MEDIANA	GRUPOS HOMOGÊNEOS	
	Vitrificação	18,000	0,414	A	
Presença	Ponta Silicone	13,250	0,057	A	B
	Controle	6,250	0,036	B	

Quando se compara, em cada tratamento, a distribuição dos valores na ausência e presença de escovação, mediante o teste de Mann-Whitney, pode-se verificar que apenas para o grupo Controle há diferença significativa. Neste caso, há uma redução do valor mediano, (ausência = 0,125 e presença = 0,023).

### 5.3 Análise do biofilme dentário e da topografia da superfície cerâmica em MEV

#### 5.3.1 Topografia da superfície cerâmica

As características superficiais das cerâmicas, de acordo com as diferentes condições de escovação e os procedimentos polimento e vitrificação, estão representadas nas Figuras 10 e 12.

A superfície da cerâmica polida com pontas de silicone apresentou aspecto mais liso, porém com permanência de algumas pequenas irregularidades. As amostras vitrificadas resultaram em uma superfície mais irregular, caracterizada por picos e vales.

Em comparação, o grupo controle que consistia em amostras cerâmicas sem tratamento superficial, apresentou aspecto mais liso e uniforme.

As amostras submetidas à simulação de escovação, de maneira geral, apresentaram maiores irregularidades do que os grupos sem escovação.

### **5.3.2 Morfologia do Biofilme dentário inicial**

Após 8 horas no ambiente bucal, pode-se observar a presença de cocos e bastonetes curtos e longos, isolados e agregados aderidos à superfície cerâmica. Foram observados materiais fibrilar e granular recobrimo a superfície das amostras (Figura 10).

Os morfotipos bacterianos mais encontrados foram cocos e bastonetes curtos, tanto em ausência (Figura 11) quanto em presença de escovação simulada (Figura 12).

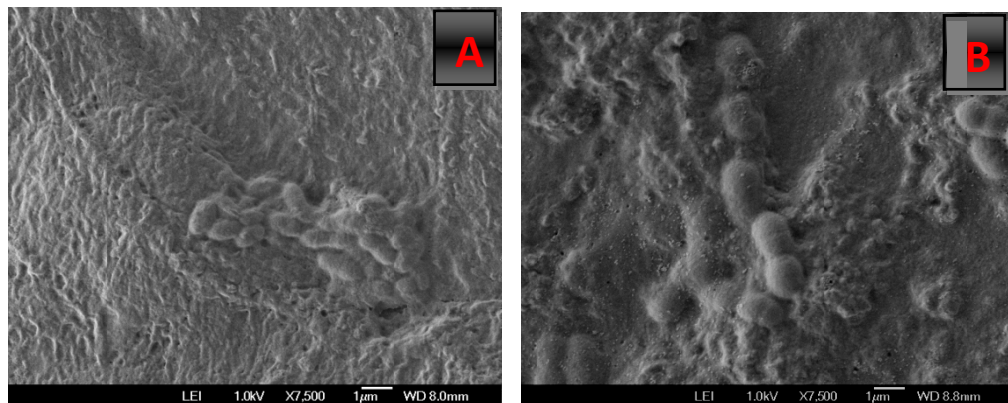


Figura 10 - Micrografias representativas da superfície cerâmica recoberta por material acelular: (A) Fibrilar; (B) Granular.

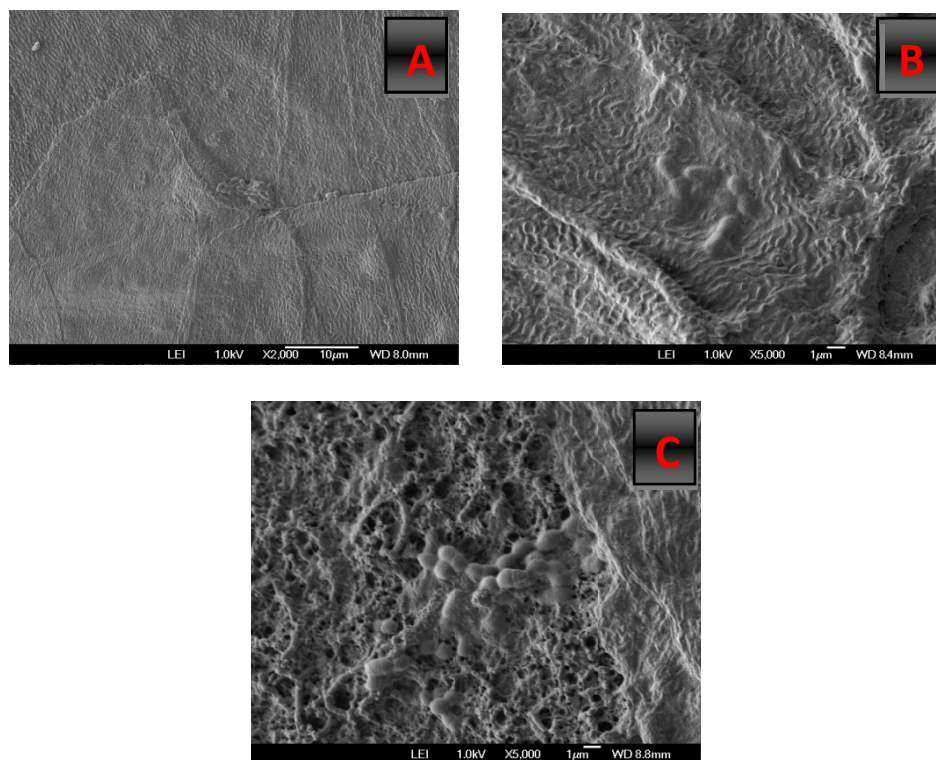


Figura 11- Micrografias representativas da superfície cerâmica, em ausência de escovação: (A) Amostras controle; (B) Amostras polidas com ponta de silicone; (C) Amostras vitrificadas.

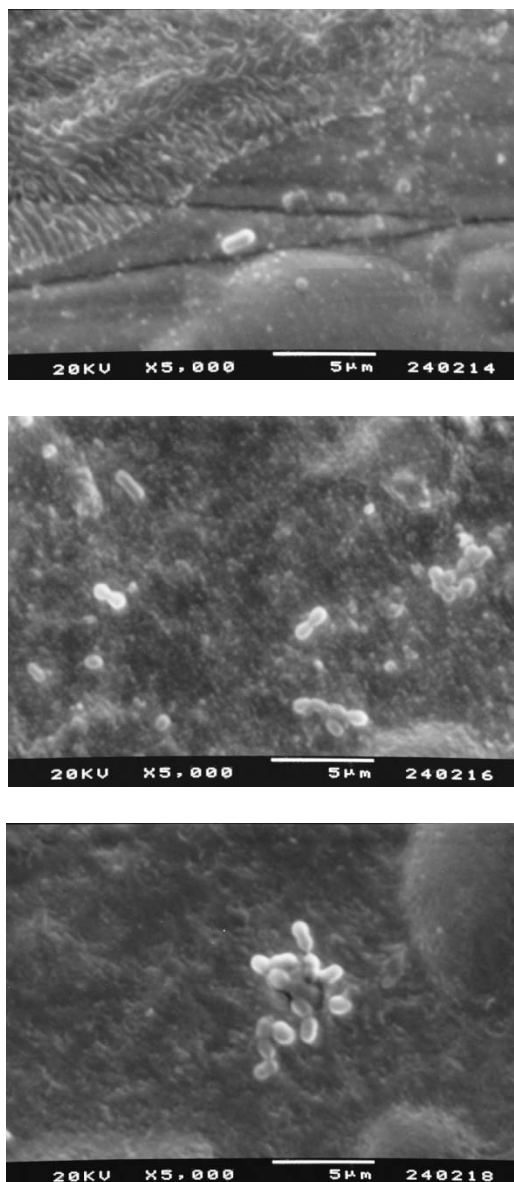


Figura 12 - Micrografias representativas da superfície cerâmica, em presença de escovação: (A) Amostras controle; (B) Amostras polidas com ponta de silicone; (C) Amostras vitrificadas.

## 6. DISCUSSÃO

A zircônia é um material biocompatível e com baixa tendência a acumular biofilme dental (Rimondini et al., 2002; Scotti et al., 2006; Scotti et al., 2007) sendo possível deixá-la exposta na região gengival dos conectores em próteses parciais fixas (PPF). Este procedimento, também indicado por outros autores (Guazzato et al., 2004a, 2004b), além de não comprometer a estética permite a confecção de conectores em espaços ocluso-gengivais reduzidos já que não é necessária a aplicação da cerâmica de cobertura nessa região.

A escolha do tipo de tratamento superficial da cerâmica de Y-TZP é de extrema importância, principalmente na região inferior do conector em PPF, visto que o aumento da rugosidade superficial nesta região pode promover acúmulo de biofilme, favorecendo o desenvolvimento de problemas periodontais (Sailer et al., 2007).

Para a avaliação da formação de biofilme *in situ* foi necessária a desinfecção das amostras de Y-TZP previamente a sua colocação em boca. A escolha do método foi determinante para o estudo, uma vez que este tipo de cerâmica pode sofrer degradação quando submetida a baixas temperaturas (entre 120-400°C), em presença água. Este processo conhecido como *Low Temperature Degradation* (degradação em baixa temperatura) (Piconi, Maccauro, 1999; Ban et al., 2008; Chevalier, 2006; Kelly, Denry, 2008; Denry, Kelly, 2008) excluiu a

possibilidade de esterilização das amostras em autoclave por calor úmido em temperaturas entre 121 °C e 134 °C. O método de desinfecção química por digluconato de clorexedina pode causar efeito residual por até 7 horas (Tomás et al., 2010) camuflando a formação de biofilme. Portanto, o uso de hipoclorito de sódio 1%, além de ser preconizado para uso clínico odontológico, torna viável a desinfecção química de materiais sensíveis a elevações de temperatura e umidade.

Na cavidade bucal, os materiais restauradores estão sujeitos à ação de diversos agentes que podem alterar a qualidade de sua superfície (Heintze e Forjanic, 2005), o que faz da resistência ao desgaste uma propriedade física importante (Correr Sobrinho et al., 2001). No presente estudo, optou-se por reproduzir, através de uma máquina de escovação, condições semelhantes às que ocorrem *in situ*, por ser este um método efetivo para avaliar a resistência ao desgaste de materiais restauradores tais como: resinas compostas, cimento de ionômero de vidro, cerâmicas, titânio, ouro, amálgama e resinas acrílicas (Amaral et al., 2006; Heintze; Forjanic, 2005; Hossain et al. 2006; Johannsen et al., 1992; Mondelli et al., 2005; Yesil Duymus et al., 2006).

## 6.1 Discussão dos resultados

A literatura sugere que as características superficiais da cerâmica sejam analisadas com a utilização de mais de um parâmetro de rugosidade, tais como Ra, Rz, Ry ou RPM (Whitehead et al., 1995). Para maior confiabilidade dos dados de rugosidade foram avaliados os valores de Ra, o valor médio aritmético; e de Rz, a média aritmética entre o pico máximo e o vale mais baixo.

No presente estudo, a superfície cerâmica vitrificada apresentou a maior rugosidade superficial Ra ( $0,017\mu\text{m}$ ), em presença de escovação, quando comparada a PS ( $0,006\mu\text{m}$ ). Em ausência de escovação, PS e V apresentaram médias similares de rugosidade Ra ( $V=PS= 0,08\mu\text{m}$ ), e médias diferentes para Rz ( $V= 0,048\mu\text{m}$  e  $PS= 0,068\mu\text{m}$ ), porém este valor não caracterizou diferença estatística significativa.

O objetivo do processo de vitrificação é selar poros abertos e microfissuras na superfície cerâmica promovendo a retração e aproximação das partículas. Entretanto, como não há uma proporção definida entre o pó do glaze Vita Akzent 26 e o líquido modelador, pode haver maior incorporação de um dos produtos que interfira em suas propriedades e características.

Quando comparado ao grupo controle (rugosidade Ra, em ausência de escovação), o grupo V apresentou diferença estatística significativa.



Os valores de Ra e Rz revelaram que o processo de vitrificação não se compara a lisura obtida nas amostras polidas com pontas de silicone diamantadas. O processo de vitrificação recobre a superfície da cerâmica de infraestrutura de Y-TZP com uma camada de cerâmica vítrea de baixa resistência, a qual quando submetida ao desgaste abrasivo ocasiona a formação de sulcos gerando maior rugosidade superficial em comparação aos grupos controle e polido mecanicamente.

Alguns estudos sugerem que um bom polimento da superfície cerâmica com Discos Sof-lex ou Kit Shofu, por exemplo, produz menor rugosidade do que superfícies vitrificadas (Jacobi et al., 1991, Jagger; Harrison, 1994), o que corrobora com o presente estudo.

Kantorski et al. (2006) compararam a rugosidade superficial (Ra) das cerâmicas feldspáticas, aluminizadas e à base de zircônia, após vitrificação. As cerâmicas de infraestrutura indicaram maiores valores de rugosidade (alumina =  $0,7\mu\text{m}$ ; zircônia =  $0,75\mu\text{m}$ ), quando comparadas a VM7 ( $0,43\mu\text{m}$ ). Estes autores apresentam valores maiores de rugosidade para cerâmicas de Y-TZP vitrificadas do que o presente estudo. As diferenças de rugosidade superficial observadas entre as cerâmicas podem ser atribuídas à micro-característica estrutural dos materiais, como o tamanho e forma dos cristais. Segundo Della Bona & Anusavice, em 2002, as cerâmicas de infraestrutura apresentam alto conteúdo cristalino com cristais irregulares, o que justifica a diferença no padrão de rugosidade superficial.

Apesar da rugosidade clinicamente aceitável em cerâmicas ser de 0,2  $\mu\text{m}$  (Tholt et al., 2006), alguns estudos *in situ* (Bollen et al., 1997) sugerem que esta rugosidade superficial (Ra) inicial seja ideal para a retenção bacteriana. Desta forma, o aumento na rugosidade superficial pode favorecer a formação e maturação do biofilme dentário (Quirynen; Bollen; 1995; Quirynen et al., 1990) resultando em maior risco de cárie e doença periodontal.

Alguns trabalhos (al-Wahadni et al.; 1998, Araújo, 2003; Aksoy et al., 2006; Al-Wahadni et al., 2006; Brentel, 2007 ) mostraram que a superfície cerâmica feldspática vitrificada apresentou menor rugosidade superficial (Ra) comparada a outros métodos de polimento. Embora alguns autores (Scurria; Powers, 1994; Sarac et al., 2006; Tholt et al., 2006) não tenham observado diferença significativa entre superfícies cerâmicas polidas ou vitrificadas, outros acreditam que nenhum procedimento de polimento recriará uma superfície similarmente lisa àquela da vitrificação original, ou seja, similar a primeira cocção realizada (Patterson et al., 1992).

O presente estudo não avalia procedimentos de acabamento após a vitrificação, como a maioria dos autores, visto que estes avaliaram a rugosidade em cerâmicas de cobertura (feldspáticas). O enfoque do presente estudo foi comparar o polimento com pontas de silicone diamantadas e o processo de vitrificação sobre a cerâmica de infraestrutura (IE), visando principalmente obtenção de menor rugosidade superficial e formação de biofilme dentário, para os casos em próteses parciais fixas em que a IE ficará exposta. Desta maneira, partiu-se do princípio de que a cerâmica de IE não sofreu

procedimento de acabamento (desgaste com brocas diamantadas), antes do polimento ou vitrificação.

Além de ajustes oclusais, outros procedimentos clínicos *in situ* podem causar degradação da cerâmica, como as aplicações de flúor-fosfato acidulado, ingestão de bebidas carbonatadas, procedimentos da abrasão do ar-pó podem tornar rugosas a superfície das restaurações (Yilmaz; Ozkan, 2010), assim como a própria escovação diária.

Diferentes fatores podem influenciar o desgaste *in vitro* de materiais restauradores: o dentifrício, a pressão de escovação, a máquina de simulação de escovação, o número de ciclos (Anil; Bolay 2002; Heintze; Forjanic, 2005), o tipo de escova e as diferenças na preparação das amostras (Heintze; Forjanic, 2005). Foram simulados no presente estudo 400.000 ciclos, o que corresponde a aproximadamente três anos de escovação (Hossain et al., 2006, 2007; Wataha et al., 1999) e a pressão aplicada de 200g (Amaral et al., 2006; Correr Sobrinho et al., 2001; Garcia et al., 2004; Mondelli et al., 2005; Wang et al., 2004).

Além de terem sua rugosidade superficial alterada, as amostras submetidas ao processo de escovação podem ter removida a camada de vitrificação e a camada de pigmento de correção de cor aplicadas de sua superfície a partir de 160.000 ciclos de escovação (Aker et al., 1980; Bativa et al., 1987; Di Credito et al., 1995).

A rugosidade superficial é um fator de grande importância na determinação da formação e composição de placa bacteriana (Quirynen et al., 1989; Quirynen; Bollen, 1995). Como a adesão bacteriana teoricamente evolui de um estágio inicial reversível a um

estágio mais forte da adesão, considerado irreversível, os autores sugerem que a formação do biofilme ocorra primeiramente nas irregularidades, onde os microrganismos estão mais “protegidos” das forças de cisalhamento (Quirynen et al., 1990; Quirynen et al., 1993; Gatewood et al., 1993), conseqüentemente, o biofilme pode apresentar uma maturação mais rápida nestas áreas.

O presente estudo avaliou a formação do biofilme *in situ* em MEV e MCVL. A formação do biofilme inicia-se com a adesão de cocos e bastonetes curtos seguidos por microrganismos filamentosos e bastonetes (Löe et al., 1965), o que caracterizou as imagens observadas neste estudo. Com a maturação do biofilme, microrganismos filamentosos e espiroquetas são visualizados (Nyvad; Fejerskov, 1989). Em MEV, observou-se presença de cocos e bastonetes sobre as amostras; e maior colonização bacteriana nas amostras vitrificadas, grupo que apresentou maior rugosidade superficial.

Corroborando com resultados encontrados em estudos prévios (Nyvad e Fejerskov, 1989; Hannig, 1997-1999; Pereira, 2007), observamos a presença de material fibrilar e granular. Lie (1979) descreveu três tipos morfológicos de película: globular, fibrilar e granular. Essa diferenciação provavelmente está relacionada ao tipo e morfologia da proteína salivar que são adsorvidas no material.

As propriedades do biofilme: espessura média ( $\mu\text{m}$ ) e biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) são indicadores quantitativos da adaptação e maturação do biofilme sobre diferentes superfícies, já que maiores valores de média e biovolume obtidos nas imagens tridimensionais

representam acúmulos maiores de biofilme sobre os respectivos substratos (Heydorn, 2000).

A caracterização quantitativa da característica estrutural do biofilme é uma ferramenta valiosa para estudar a resposta e o comportamento do biofilme. Atualmente, a MCVL é uma ferramenta de escolha para estudar os biofilmes diretamente no seu habitat natural (*in situ*) (Palmer et al., 1999; Neu; Lawrence, 1997; Yerly et al., 2007), devido sua característica não invasiva e não destrutiva.

Maior espessura média e biovolume de biofilme foram observadas em V. Os grupos PS e C apresentaram valores semelhantes para biovolume e espessura média. Essas variações podem ocorrer devido às propriedades dos materiais como energia livre de superfície (ELS) entre diversos materiais restauradores (Rimondini et al., 1997; Konishi et al., 2003) e rugosidade superficial (Pratt-Terpstra et al., 1989 e Quirynen; Bollen, 1995).

Quando ELS e rugosidade superficial foram avaliadas conjuntamente, foi verificado que a influência da rugosidade superficial parece ser mais relevante na adesão bacteriana. Quirynen et al. (1989) avaliaram, *in situ*, o biofilme formado sobre dois materiais com diferentes ELS. Amostras de cada material foram divididas em uma parte lisa ( $R_a = 0,1 \mu\text{m}$ ) e outra rugosa ( $R_a = 2,2 \mu\text{m}$ ). Verificou-se menor quantidade de biofilme sobre a parte lisa do material com baixa ELS, mas não encontraram diferenças na parte rugosa entre os dois materiais, sugerindo que rugosidade superficial é uma propriedade mais importante do que ELS na formação e composição do biofilme. As diferenças quanto ao biovolume e

espessura média do biofilme encontradas no presente estudo, podem, portanto serem atribuídas às diferenças na rugosidade superficial e ELS entre os grupos, sendo que esta última não foi avaliada.

Na literatura, são escassos os trabalhos relacionando os mesmos materiais e condições experimentais deste estudo, o que ressalta sua importância e a necessidade de condução de novos trabalhos relacionados a Y-TZP e MCVL, uma vez que a aplicação clínica deste material na Odontologia vem crescendo baseado na aplicação médica sem contanto possuir evidências clínicas em longo prazo.

## 7. CONCLUSÕES

A partir da metodologia utilizada no presente estudo, parece lícito concluir que:

- a) A superfície cerâmica vitrificada apresentou a maior rugosidade superficial e a superfície cerâmica polida com ponta de silicone diamantada apresentou menor rugosidade superficial, em presença de escovação simulada;
- b) O fator simulação de escovação não foi um fator preponderante para o aumento da rugosidade superficial;
- c) A vitrificação da cerâmica possibilitou a formação de maior espessura e biovolume do biofilme comparada à cerâmica sem tratamento ou polida mecanicamente, principalmente após simulação da escovação.

## 8. REFERÊNCIA\*

Adamczyk E, Spiechowicz E. Plaque accumulation on crowns made of various materials. *Int J Prosthodont*. 1990;3(3):285-91.

Aker DA, Aker JR, Sorensen SE. Toothbrush abrasion of color-corrective porcelain stains applied to porcelain-fused-to-metal restorations. *J Prosthet Dent*. 1980 Ago;44(2):161-3.

Aksoy G, Polat H, Polat M, Coskun G. Effect of various treatments and glazing (coating) techniques on the roughness and wettability of ceramic dental restorative surfaces. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2006;53:254-9.

Al-Wahadni A. An in vitro investigation into the surface roughness of 2 glazed, unglazed, and refinished ceramic materials. *Quintessence Int*. 2006 Abr;37(4):311-7.

Al-Wahadni A, Martin DM. Glazing and finishing dental porcelain: a literature review. *J Can Dent Assoc*. 1998 Set;64(8):580-3.

---

\* Baseado em:

International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.] Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)



Amaral CM, Rodrigues JA, Erhardt MCG, Araujo MWB, Marchi GM, Heymann HO et al. Effect of whitening dentifrices on the superficial roughness of esthetic restorative materials. *J Esthet Restor Dent*. 2006;18(2):102-8.

Anil N, Bolay S. Effect of toothbrushing on the material loss, roughness, and color of intrinsically and extrinsically stained porcelain used in metal-ceramic restorations: an in vitro study. *Int J Prosthodont*. 2002 Set/Out;15(5):483-7.

Araújo, JLN. Análise *in vitro* da rugosidade superficial apresentada pelas porcelanas Omega 900 e Vitadur Alpha após a utilização de três sistemas de polimento [dissertação] São Paulo: Faculdade de Odontologia: Universidade de São Paulo – USP; 2003.

Auschill, TM Arweiler NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci*. 2002;110(1):48-53.

Ban S, Sato H, Suehiro Y, Nakanishi H, Nawa M. Biaxial flexural strength and ltd of Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocomposite and Y-TZP. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*. 2008; 87B:492-8.

Barghi N, Lee A, Draughn RA. When to glaze - an electron microscope study. *J Prosthet Dent*. 1976;35(6):648-53.

Bativała F, Weiner S, Berendsen P, Vincent GR, Ianzano J, Harris WT. The microscopic appearance and effect of toothbrushing on extrinsically stained metal-ceramic restorations. *J Prosthet Dent*. 1987; 57(1):47-52.

Brex M, Theilade J, Attstron R. An ultrastructural quantitative study of the significance of microbial multiplication during early dental plaque growth. *J Periodontol Res.* 1983 Mar;18(2):177-86.

Brentel AS. Efeito do sistema de acabamento e polimento na rugosidade superficial e formação in situ de biofilme dentário inicial em uma cerâmica feldspática micro-particulada.[dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos: UNESP - Univ Estadual Paulista; 2008.

Bollen CML, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention. A review of the literature. *Dent Mater.* 1997;13:258-69.

Busscher HJ, Weerkamp AH, van der Mei HC, van Pelt AW, de Jong HP, Arends J. Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. *Appl Env Microbiol.* 1984;48:980-3.

Chevalier J, Calès B, Drouin Jm. Low-temperature aging of Y-TZP ceramics. *J Am Ceram Soc.* 1999;82:2150-4.

Chevalier J. What future for zirconia as a biomaterial? *Biomaterials.* 2006;27:535-43.

Correr Sobrinho L, Francisco MU, Consani S, Sinhoreti MAC, Consani RLX. Influência da escovação na rugosidade de superfície de materiais restauradores estéticos. *Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos.* 2001 Jan/Abr;4(1):47-55.

Costerton, J.W. Lewandowski Z , de Beer D, Caldwell DE, Korber DR, Jamer GA. Biofilms, the customized microniche. J Bacteriol. 1994 Abr;176(8):2137-42.

Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu V Microbiol. 1995;49:711-45.

De Fúcio SBP, Carvalho FG, Sobrinho LR, Sinhoreti MAC, Puppim-Rontani RM. The influence of 30-day-old *Streptococcus mutans* biofilm on the surface of esthetic restorative materials - An *in vitro* study. J Dentistry. 2008;36:833-39.

Della Bona A, Anusavice KJ. Microstructure, composition, and etching topography of dental ceramics. Int J Prosthodont. 2002;15:159-67.

Della Bona, A. Adesão as cerâmicas: evidências científicas para o uso Clínico. São Paulo: Artes Médicas; 2009.

Denry I, Kelly JR. State of the art of zirconia for dental applications. Dent Mater. 2008;24:299-307.

De Wet, FA, Ferreira, MR. Dental glazes: surface roughness and plaque accumulation. Quintessence Int. 1980 Set;9:127-35.

Di Creddo RC, Araújo CRP, Araújo PA. Avaliação de pastilhas cerâmicas submetidas à ação de produtos fluoretados. Rev Assoc Cir Dent. 1995 Jan;57(1):47-52.

Fuzzi M, Zaccheroni Z, Vallania G, Scaning. Electron microscopy and profilometer evaluation of glazed and polished dental porcelain. *Int Journal Prosthodontics*. 1996;9(5):452-8.

Garcia FC, Wang L, D'Alpino PH, Souza JB, Araujo PA, Mondelli RF. Evaluation of the roughness and mass loss of the flowable composites after simulated toothbrushing abrasion. *Pesq Odontol Bras*. 2004 Abr/Jun;18(2):156-61.

Gatewood RR, Cobb CM, Killoy WJ. Microbial colonization on natural tooth structure compared with smooth and plasma-sprayed dental implant surfaces. *Clin Oral Implants Res*. 1993;4(2):53-64.

Gibbons RG, Nygaard M. Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaque-forming streptococci. *Arch Oral Biol*. 1968;13(10):1249-62.

Goldstein GR, Barnhard BR, Penugonda BJ. Profilometer, SEM, and visual assessment of porcelain polishing methods. *J Prosthet Dent*. 1991;65(5):627-34.

Guazzato M, Albakry M, Ringer SP, Swain MV. Strength, fracture toughness and microstructure of a selection of all-ceramic materials. Part II. Zirconia-based dental ceramics. *Dent Mater*. 2004a;20:449-56.

Guazzato M, Proos K, Quach L, Swain MV. Strength, reliability and mode of fracture of bilayered porcelain/zirconia (Y-TZP) dental ceramics. *Biomaterials*. 2004b;25:5045-52.

Guo X. On the degradation of zirconia ceramics during low-temperature annealing in water vapor. *J Phys Chem Solids*. 1999;60:539-46.

Hahn R, Weiger R, Netuschil L, Bruch M. Microbial accumulation and vitality on different restorative materials. *Dent Mat*. 1993;9:312-6.

Hannig M. Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *Eur J Oral Sci*. 1997 Oct;105(5 Pt 1):422-33.

Hannig M. Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. *Eur J Oral Sci*. 1999 Feb;107(1):55-64.

Heintze SD, Forjanic M. Surface roughness of different dental materials before and after simulated toothbrushing in vitro. *Oper Dent*. 2005 Set/Oct;30(5):617-26.

Heydorn A, Nielsen AT, Hetzer M, Sternberg C, Kjaer B, Molin S. Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT. *Microbiol*. 2000;146:2395-407.

Hossain A, Okawa S, Miyakawa O. Effect of toothbrushing on titanium surface: An approach to understanding surface properties of brushed titanium. *Dent Mater*. 2006 Apr;22(4):346-52.

Hossain A, Okawa S, Miyakawa O. Surface texture and composition of titanium brushed with toothpaste slurries of different pHs. *Dent Mater*. 2007 Feb;23(2):186-92.

Jacobi R, Shillingburg HT, Duncanson MG. A comparison of the abrasiveness of six ceramic surfaces and gold. *J Prosthet Dent.* 1991;66:303-9.

Jagger DC, Harrison A. An *in vitro* investigation into the wear effects of unglazed, glazed and polished porcelain on human enamel. *J Prosthet Dent.* 1994;72:320-3.

Jendresen MD, Glantz Po. Clinical adhesiveness of selected dental materials. An *in vivo* study. *Acta Odontol Scand.* 1981;39:39-45.

Johannsen G, Redmalm G, Rydén H. Surface changes on dental materials. II: the influence of two different dentifrices on surface roughness measured by laser reflexion and profilometer techniques. *Swed Dent J.* 1992;16(1-2):13-20.

Kantorski KZ, Valandro LF, Scotti R, Della Bona A, Bottino AM. Surface roughness of glazed feldspar, alumina and zirconia-based ceramics. *Cienc Odontol Bras.* 2006 Out/Dez;9(4):12-7.

Kawai K, Urano M, Ebisu S. Effect of surface roughness of porcelain on adhesion of bacteria and their synthesizing glucans. *J Prosthet Dent.* 2000;83(6):665-7.

Kelly JR, Denry I. Stabilized zirconia as a structural ceramic: an overview. *Dent Mater.* 2008;24(3):289-98.

Konishi N, Toril Y, Kurosaki A, Takatsuka T, Itota T. Confocal laser scanning microscopic analysis of early plaque formed on resin composite and human enamel. *J Oral Rehabilitation.* 2003;30:790-5.

Kou W, Moulin M, Sjögren G. Surface roughness of five different dental ceramic core materials after grinding and polishing. *J Oral Rehabil.* 2006;33:117-24.

Lang FF, Dunlop GL, Davis BI. Degradation during aging of transformation-toughened  $ZrO_2$ - $Y_2O_3$  materials at 250°C. *J Am Ceram Soc.* 1986;69:237-40.

Lie T. Morphologic studies on dental plaque formation. *Acta Odontol Scand.* 1979;37(2):73-85.

Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965;36:177-87.

Martínez-Gomis MJ, Bizar J, Anglada JP, Samsó J, Peraire M. Comparative evaluation of four finishing systems on one ceramic surface. *Int J Prosthodont.* 2003;16:74-7.

Mondelli RFL, Wang L, Garcia FCP, Prakki A, Mondelli J, Franco EB, et al. A. Evaluation of weight loss and surface roughness of compomers after simulated toothbrushing abrasion test. *J Appl Oral Sci.* 2005,13(2):131-5.

Nassar U, Meyer AE, Ogle RE, Baier RE. The effect of restorative and prosthetic materials on dental plaque. *Periodontology.* 2000; 8:114-24.

Netuschil L., Reich E, Unteregger G, Sculean A, Brex M. A pilot study of confocal laser scanning microscopy for the assessment of undisturbed dental plaque vitality and topography. *Arch Oral Biol.* 1998;43:277-85.

Neu TR, Lawrence JR. Development and structure of microbial biofilms in river water studied by confocal laser scanning microscopy. *FEMS Microbiol Ecol.*1997;24:11-25.

Nyvad B, Fejerskov O. Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces *in vivo*. *Scand J Dent Res.*1987 Ago;95(4):287-96.

Palmer RJ, Sternberg C. Modern microscopy in biofilm research: confocal microscopy and other approaches. *Environmental biotechnology.*1999;10:263-6.

Patterson CJ, McLundie AC, Stirrups DR, Taylor WG. Efficacy of a porcelain refinishing system in restoring surface finish after grinding with fine and extra fine diamond burs. *J Prosthet Dent.* 1992;68(3):402-6.

Pereira SMB, Kantorski KZ, Brentel AS, Valandro LF, Bottino MA. SEM Analysis of *in situ* early bacterial colonization on two novel feldspathic ceramics submitted to different types of glazing. *The Journal Contemporary Dental Practice.* 2008 Fev;9(2):1-7.

Pereira, SMB. Efeito da escovação associada à dentifício branqueador na degradação superficial e formação de biofilme em materiais cerâmicos [dissertação] São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos: UNESP - Univ Estadual Paulista; 2007.

Piconi C, Maccauro G. Review: zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials.* 1999;20:1-25.



Pratt-Terpstra H, Weerkamp AH, Busscher HJ. The effects of pellicle formation on streptococcal adhesion to human enamel and artificial substrata with various surface free-energies. *J Dent Res.* 1989;68(3):463-7.

Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, Van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation. An *in vivo* study in man. *J Clin Periodontol.* 1990;17:138-44.

Quirynen M, van der Mei HC, Bollen CM, Schotte A, Marechal M, Doornbusch GI, Naert I, et al. An *in vivo* study of the influence of surface roughness of implants on the microbiology of supra- and subgingival plaque. *J Dent Res.* 1993;72(9):1304-9.

Quirynen M, Bollen CML. The influence of surface roughness and surface- free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of literature. *J Clin Periodontol.* 1995;22: 1-14.

Rimondini L, Fare S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F, Carrassi A. The effect of surface roughness on early *in vivo* plaque colonization on titanium. *J Periodontol.* 1997;68:556-62.

Rimondini L, Cerroni L, Carrassi A, Torricelli P. Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an *in vitro* and *in vivo* study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002;17(6):793-8.

Sailer I, Fehér A, Filser F, Gauckler LJ, Luthy H, Hammerle CHF. Five- year clinical results of zirconia frameworks for posterior fixed partial dentures. *Int J Prosthodont.* 2007;20:383-8.

Sarac D, Sarac YS, Yuzbasioglu E, Bal S. The effects of porcelain polishing systems on the color and surface texture of feldspathic porcelain. *J Prosthet Dent*. 2006 Ago;96(2):122-8.

Sato T, Shimada M. Crystalline phase-change in yttria-partially-stabilized zirconia by low temperature annealing. *J Am Ceram Soc*. 1984;67:212-3.

Scotti R, Kantorski KZ, Monaco C, Valandro LF, Ciocca L, Bottino MA. Early plaque colonization on polished and glazed-zirconium ceramic surface. *Minerva Stomatol*. 2006;55:493-502.

Scotti R, Kantorski KZ, Monaco C, Valandro LF, Ciocca L, Bottino MA. SEM Evaluation of in situ early colonization on a Y-TZP Ceramic: A pilot study. *Int J Prosthodont*. 2007;20(4):151-4.

Scurria MS, Powers JM. Surface roughness of two polished ceramic materials *J of Prost Dent*. 1994;71(2):174-7.

Takatsuka T, Konishi N, Nakabo S, Hashimoto T, Torii Y, Yoshiyama M. Adhesion in vitro of oral *Streptococci* to porcelain, composite resin cement and human enamel. *Dent Mat J*. 2000;19(4):363-72.

Tanoue N, Matsumura H, Atsuta M. Wear and surface roughness of current prosthetic composites after toothbrush/dentifrice abrasion. *J Prosthet Dent*. 2000 Jul;84(1):93-7.

Teixeira EC, Thompson JL, Piascik JR, Thompson JY. *In vitro* toothbrush-dentifrice abrasion of two restorative composites. *J Esthet Restor Dent*. 2005; 17(3):172-80; discussion 181-2.

Tholt WG, Miranda-Júnior R, Prioli J, Thompson J, Oda M. Surface roughness in ceramics with different finishing techniques using atomic force microscope and profilometer. *Oper Dent*. 2006;31(4):442-9.

Tomás I, Cousido MC, Garcia-Caballero L, Rubido S, Limeres J, Diz P. Substantivity of a single chlorhexidine mouthwash on salivary flora: Influence of intrinsic and extrinsic factors. *J Dent*. 2010 Abr;6. [Epub Ahead Of Print]

Van Dijk J, Hekströter F, Busscher H, Weerkamp A, Cansen H, Arends J. Surface-free energy and bacterial adhesion. An *in vivo* study in beagle dogs. *J Clin Periodontol*. 1987;14:300-4.

Wang L, Garcia FC, De Araujo PA, Franco EB, Mondelli RF. Wear resistance of packable resin composites after simulated toothbrushing test. *J Esthet Restor Dent*. 2004;16(5):303-14.

Wataha JC, Lockwood PE, Noda M, Nelson SK, Mettenburg DJ. Effect of toothbrushing on elemental release from dental casting alloys. *J Prosthodontol*. 1999 Dez;8(4):245-51.

White SN, Miklus VG, McLaren EA, Lang LA, Caputo AA. Flexural strength of a layered zirconia and porcelain dental all-ceramic system. *J Prosthet Dent*. 2005;94:125-31.

Whitehead SA, Shearer AC, Watts DC, Wilson NH. Comparison of methods for measuring surface roughness of ceramic. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1995;22(6):421-27

Wood SR, Kirkham J, Marsh PD, Shore RC, Nattress B, Robinson C. Architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. *J Dent Res*. 2000;79:21-7.

Yamamoto K, Noda H, Kimura K. Adherence of oral *streptococci* to composite resin restorative materials. *J Dent Res*. 1989 Oct;17(5):225-9.

Yerly J, Hu, Y, Jones SM, Martinuzzi RJ. A two-step procedure for automatic and accurate segmentation of volumetric CLSM biofilm image. *J Microbiol Methods*. 2007;70:424-33.

Yesil Duymus Z, Orbak R, Dilsiz A. Abrasion resistance of veneering materials to tooth brushing. *Dent Mater J*. 2003 Dec;22(4):460-6.

Yilmaz K, Ozkan P. The methods for the generation of smoothness in dental ceramics. *Compend Contin Educ Dent*. 2010 Jan/Fev;31(1):30-2.

## APÊNDICE A

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Caro(a) Senhor(a)

Eu, PRISCILLA CRISTOFORIDES PEREIRA, aluna de mestrado em Materiais Odontológicos – Especialidade Prótese Dentária, portador do CPF 05050048605, estabelecido à Rua Inconfidência, 196 / apt 35, na cidade de São José dos Campos, telefone para contato (12) 8123-8814, vou coordenar uma pesquisa cujo título é Efeito da escovação na formação *in situ* de biofilme dentário inicial e na degradação superficial em cerâmica policristalina de zircônia parcialmente estabilizada por ítrio após vitrificação e polimento. O objetivo será avaliar o efeito da vitrificação e do polimento na rugosidade superficial e formação, *in situ*, do biofilme dentário inicial após simulação da escovação, em cerâmica policristalina de zircônia parcialmente estabilizadas por ítrio, avaliado por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia confocal laser (MCVL). Amostras padronizadas de cerâmica serão confeccionadas e divididas em três grupos de acordo com a vitrificação ou polimento realizado. Amostras de cada grupo serão fixadas em dispositivos bucais confeccionados para 10

indivíduos selecionados com adequado padrão de higiene bucal. Após 8 horas no ambiente bucal, as amostras serão removidas do dispositivo, parte será avaliada em MEV e parte com MCFL. A análise, com MEV, será realizada por meio da seleção aleatória de cinco campos para cada amostra. Para análise com MCFL, secções ópticas serão realizadas e a espessura do biofilme depositado sobre cada amostra será determinada pela contagem do número de secções ópticas em que bactérias podem ser encontradas. Nos dois tipos de microscopia será realizada análise descritiva do material celular e acelular depositado. Os dados serão submetidos a testes estatísticos adequados. O Sr. (a) tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas e sobre o andamento do trabalho, que terá a supervisão do Professor Assistente Dr. RUBENS NISIE TANGO, do Departamento de Materiais odontológicos e Prótese da UNESP-CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS.

Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contacto com o Comitê de Ética (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-UNESP, situada na Av. Engº Francisco José Longo, 777 – CEP 12245000, em São José dos Campos-SP, fone 012-3947-9029, e-mail [janete@fosjc.unesp.br](mailto:janete@fosjc.unesp.br) e comunique-se com a Coordenadora Profa. Adjunto JANETE DIAS ALMEIDA. Informo que será garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e assim

deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela Colaboração.

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Acredito ter sido esclarecido(a) a respeito das informações que leram para mim, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em participar sabendo quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa. Concordo em participar voluntariamente deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido.

NOME/RESPONSÁVEL \_\_\_\_\_

RG \_\_\_\_\_ CPF \_\_\_\_\_

Endereço completo: \_\_\_\_\_

Assinat.Resp: \_\_\_\_\_

Assinat.Pesquisador: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B – Tabelas

Tabela 3 – Resultados de médias e desvio-padrão dos valores de rugosidade superficial  $\mu\text{m}$  (Ra e Rz) dos diferentes tratamentos superficiais, em presença e ausência de escovação

RUGOSIDADE SUPERFICIAL	ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO SUPERFICIAL	
		PS	V
Ra	P	$0,007 \pm 0,004$	$0,013 \pm 0,011$
	A	$0,008 \pm 0,004$	$0,008 \pm 0,009$
Rz	P	$0,055 \pm 0,038$	$0,066 \pm 0,049$
	A	$0,068 \pm 0,042$	$0,048 \pm 0,035$

Tabela 7 – Resultados de médias e desvio-padrão dos valores de biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) dos diferentes tratamentos superficiais, em presença e ausência de escovação

BIOVOLUME	ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO SUPERFICIAL		
		C	PS	V
	P	$0,036 \pm 0,027$	$0,057 \pm 0,035$	$0,414 \pm 0,375$
	A	$0,032 \pm 0,022$	$0,007 \pm 0,055$	$0,195 \pm 0,174$

Tabela 8 – Resultados de médias e desvio-padrão dos valores de espessura média ( $\mu\text{m}$ ) dos diferentes tratamentos superficiais, em presença e ausência de escovação.

ESPESSURA MÉDIA	ESCOVAÇÃO	TRATAMENTO SUPERFICIAL		
		C	PS	V
	P	$0,033 \pm 0,029$	$0,1213 \pm 0,102$	$0,226 \pm 0,181$
	A	$0,229 \pm 0,303$	$0,096 \pm 0,058$	$0,275 \pm 0,202$



## ANEXO 1 - Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa

 **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 - Jd. São Dimas  
CEP 12201-970 - F. (12) 3947-9028  
Fax (12) 3947-9010 / janete@fosjo.unesp.br

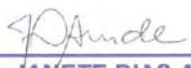
---

 **CERTIFICADO**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**  
**Com Seres Humanos**

---

**CERTIFICAMOS**, que o protocolo nº **077/2009-PH/CEP**, sobre **“Efeito da escovação na formação in situ de biofilme dentário inicial e na degradação superficial em cerâmica policristalina de zircônia parcialmente estabilizada por ítrio após vitrificação e polimento”**, sob a responsabilidade de **PRISCILLA CRISTOFORIDES PEREIRA**, tendo como Orientador o prof.Assist.Dr. Rubens Nisie Tango, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, com seres humanos, conforme Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 17 de novembro de 2009.

---

**Profa. Adjunto JANETE DIAS ALMEIDA**  
**Coordenadora**

Pereira PC. The Effect of toothbrushing simulation in early dental biofilm formation and surface roughness in Y-TZP ceramic after glazed and polishing: an *in situ* study. [dissertação]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, Univ Estadual Paulista; 2010, 100p.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of the glaze and polishing in the surface roughness and early dental biofilm formation, after toothbrushing simulation, in tetragonal zirconium polycrystal stabilized with yttrium ceramics (Cercon® Zirconia, Dentsply Ceramco). Ceramics samples were divided in three groups: control - not glazed (C); glazed (G); polishing with diamonds silica tip (ST). Half samples was submitted to toothbrushing simulation (400.000 cycles). Analyses of surface roughness (Ra and Rz) were carried before and after the superficial treatments and toothbrushing. Ten volunteers selected with high level of oral hygiene were selected for this study. Oral devices covering the crowns of the upper premolars and molars were fabricated for each participant and ceramic samples were fixed on the vestibular zones of the devices. After 8 hours *in situ*, the samples were removed from device and analyzed in SEM (n=5) and CLSM (n=10). To SEM analysis was selected means of the random election of five fields (20 x 25  $\mu\text{m}$ ) for each sample for descriptive analysis of the deposited cellular material/to acelular and the superficial topography. For analysis in CLSM were used for architecture visualization and lenses of 63x/0.13 for COMSTAT analysis and quantification. The resulting sets of confocal optical sections were collected by microscopy software as stacks of images 3-D images were obtained for analysis of biovolume and average thickness of biofilm. The data of surface roughness ( $\mu\text{m}$ ) were submitted to analysis of variance (two factors) and Dunnett's test (5%). Biovolume and mean thickness biofilm were analyzed by

Kruskal-Wallis and Mann-Whitney's test. The G Group presented greater values of surface roughness, average thickness and biovolume of biofilm, in toothbrushing presence. There were significant correlation between surface roughness and biovolume, in toothbrushing absence in the control group. Biofilm presented short isolated and aggregated predominance of coccus and bacillus. The SEM analyses verified irregular superficial aspect in G group, characterized for peaks and valleys and smoother surface and uniform in groups ST and C.

**Key Words:** Dental biofilm. Zirconium ceramic. Surface roughness. Confocal laser scanning microscopy. Toothbrushing simulation.