



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Campus de São José dos Campos  
Instituto de Ciência e Tecnologia

**SARINA MACIEL BRAGA PEREIRA**

**COLONIZAÇÃO BACTERIANA NA REGIÃO MARGINAL DE  
RESTAURAÇÕES CERÂMICAS:  
efeito do método de remoção do cimento e do polimento**

2015

**SARINA MACIEL BRAGA PEREIRA**

**COLONIZAÇÃO BACTERIANA NA REGIÃO MARGINAL DE  
RESTAURAÇÕES CERÂMICAS:  
efeito do método de remoção do cimento e do polimento**

Tese apresentada ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós- Graduação em: ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Especialidade em Prótese Dentária.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Valandro

São José dos Campos

2015

Apresentação gráfica e normatização de acordo com:  
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para  
Normalização de Trabalhos Acadêmicos do ICT. Rev. São José dos  
Campos: ICT/UNESP; 2015.

Pereira, Sarina Maciel Braga

Colonização bacteriana na região marginal de restaurações  
cerâmicas: efeito do método de remoção do cimento e do polimento  
/ Sarina Maciel Braga Pereira. - São José dos Campos : [s.n.],  
2015.

84 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em  
Odontologia Restauradora - Instituto de Ciência e Tecnologia de São  
José dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2015.

Orientador: Luiz Felipe Valandro.

1. Adesão bacteriana. 2. Polimento dentário. I. Valandro, Luiz  
Felipe , orient. II. Instituto de Ciência e Tecnologia de São José  
dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista. III. Universidade  
Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho'. IV. UNESP - Univ  
Estadual Paulista. V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática,  
ICMC/USP com adaptações - STATi e STI do ICT/UNESP. Dados fornecidos pelo autor.

## 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, 13 de agosto de 2015  
E-mail: sarambp@hotmail.com

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **BANCA EXAMINADORA**

### **Prof. Adj. Luiz Felipe Valandro (Orientador)**

Instituto de Ciências e Tecnologia  
UNESP - Univ Estadual Paulista  
Campus de São José dos Campos

### **Prof. Dra. Renata Marques de Melo Marinho**

Instituto de Ciência e Tecnologia  
UNESP – Univ Estadual Paulista  
Campus de São José dos Campos

### **Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge**

Instituto de Ciência e Tecnologia  
UNESP – Univ Estadual Paulista  
Campus de São José dos Campos

### **Prof. Dra. Marina Amaral**

Faculdade de Odontologia  
Universidade Braz Cubas

### **Prof. Dr. Rodrigo Othavio de Assunção e Souza**

Faculdade de Odontologia  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN

São José dos Campos, 13 de agosto de 2015.

## DEDICATÓRIA

A **Deus**, por estar sempre presente em minha vida, por guiar meus passos, me abençoar a cada dia e por me presentear com o dom da vida.

Aos meus queridos e amados filhos **Pedro Filho e Maria Júlia**. Meus maiores tesouros e razão de estar buscando a concretização de novos sonhos e projetos. A vocês dedico as minhas conquistas

Aos meus pais, **José Braga Pereira (in memoriam) e Eneide Maciel Pereira**, exemplos de dedicação e amor incondicional. Obrigada por sempre terem me dado oportunidade de realizar meus objetivos, por estarem sempre presentes, pela força, compreensão e por todos os ensinamentos. Obrigado mainha e painho, pela linda família que temos. Eu amo vocês. Tenho orgulho de ser filha de vocês e de poder tê-los como pai e mãe. Espero um dia ser para meus filhos o que vocês foram e são para mim.

Aos meus queridos irmãos **David e Fred**. Meus irmãos e amigos que Deus me presenteou. Sempre estão presentes em minha vida, me ajudando, aconselhando e principalmente fazendo parte do nosso maior bem que é a família. Obrigada pelo carinho e incentivo na realização dos meus objetivos.

À minha tia, madrinha e segunda mãe **Maria da Glória Pereira Braga**. Obrigada por todo apoio, carinho, amor e por estar sempre presente em minha vida.

Ao meu namorado **Júnior**. Obrigada por me dar forças, pela paciência e carinho por mim e por meus filhos nessa etapa de conclusão do Doutorado.

À toda minha família, meu alicerce, pelo apoio e por ter me ensinado a importância da família. Sou grata especialmente a minha prima **Eliane** pelo apoio, atenção e carinho com meus filhos durante esse período.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **prof. Luiz Felipe Valandro**. Obrigada por ter me aceita como sua orientada. Obrigada pela oportunidade de conviver com seus ensinamentos e reconhecida competência durante esses anos de doutorado.

Ao prof. **Marco Antonio Bottino**, por ter me acolhido novamente nesta Instituição de Ensino para realização do Doutorado. Durante os anos que estive na UNESP, aprendi muito com toda a sua experiência profissional.

Ao prof. **Prof. Dr. Antonio Olavo Cardoso Jorge**. Agradeço todo o carinho com que o senhor me recebeu no laboratório de microbiologia. Obrigada pela atenção, apoio e, principalmente, por seus ensinamentos. Foi muito boa a convivência com o senhor e com todos do departamento.

Ao prof. **Rodrigo Othavio de Assunção e Souza**, por sempre estar presente, pelos conselhos e por sua experiência profissional na clínica e pesquisa, muito importante no desenvolvimento deste trabalho.

À Professora Dra. **Renata Marques de Melo**, pela convivência durante esses anos. Agradeço os conselhos, ajuda em várias pesquisas e por compartilhar sua experiência.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia do Campus de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, através de seu Diretor, Prof. Dr. Estevão Tomomitsu Kimpara.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora coordenado pela Professora Márcia Carneiro Valera, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida no primeiro ano do Doutorado.

Ao Prof. Ivan Balducci, pela atenção e pela disponibilidade para realização da parte estatística deste trabalho.

À Lilian Anami e Karla Zanini kantorski pela ajuda na realização deste trabalho.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, pelos ensinamentos e convivência.

Ao professor Dr. Maximiliano Piero Neisser pela amizade.

Aos técnicos do laboratório de Pesquisa de Materiais Dentários, Marcos Vestali e Thaís Cachuté Paradella, por toda ajuda na realização dos trabalhos, convivência e amizade.

Aos técnicos de laboratório de Microbiologia Serginho e Domingos, pela atenção e amizade.

Aos técnicos do laboratório de Microscopia Confocal a Laser da USP, Wilton e Adriana.

Aos técnicos de laboratório, Fernando Carlos Fontes, Lilian Vilela e Marco Alfredo pelo suporte nos trabalhos realizados nas Clínicas.

Aos secretários da secção de Pós-Graduação, Rosemary de Fátima Salgado Pereira, Bruno Shiguemitsu Marques Tanaka e Ivan Oliveira Damasceno pelas informações e cuidados com nossos prazos.

Às secretárias Suzana Cristina de Oliveira e Eliane Wenzel pela atenção dispensada neste período.

À todos amigos do Programa de Pós-Graduação da Microbiologia, especialmente Patrícia, Nádia, Cristiane e todos os outros, pela ajuda com os ensinamentos de microbiologia e pela convivência durante este período.

À todos os amigos do Programa de Pós-Graduação: Alecsandro de Moura Silva, Aline Lins de Lima, Ana Carolina de Oliveira Souza, Ana Flávia, Ana Karina, Arianne Vallim Pinto Coelho, Carolina Souza Almeida, Caroline Cotes Marinho, Carol Martinelli, César Dalmolin Bergoli, Evelyn Barbosa Carmona Monteiro, Fernanda Campos, Fernanda de Cássia Papaiz Gonçalves, Frederico Freire Louzada, Gabriela da Silva Freitas, Júlia Magalhães Lima, Júlio Nogueira Luz, Laura Soares Souto Lepesqueur, Lígia Tiaki Yamamoto, Lilian Anami, Marília Rippe, Marina Amaral, Nathália Ramos, Nayara, Pedro Henrique Corazza, Priscilla Cristoforides Pereira, Rafael Alves de Lara, Pollyana, Rodrigo Furtado de

Carvalho, Ronaldo Luís Almeida de Carvalho, Sabrina Alves Feitosa, Sâmia Carolina Mota Cavalcanti, Thalita de Cássia Silva Sousa, Vanessa Cruz Macedo, Vinícius Anéas Rodrigues, Viviane Maria Gonçalves de Figueiredo pelos momentos compartilhados, conversas, risadas, conselhos, amizade, carinho e apoio em todos os momentos.

À Diretora Técnica dos Serviços de Biblioteca e Documentação do Instituto de Ciência e Tecnologia do Campus de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, por realizar as correções com competência e muita dedicação.

À todos os funcionários da creche da UNESP, pelo carinho com meus filhos.

Aos funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese pela ajuda na execução de todas as tarefas.

*O senhor é a minha rocha, a minha fortaleza e o meu libertador;  
o meu Deus é o meu rochedo, em quem me refugio.  
Ele é meu escudo e o poder que me salva, a minha torre alta.*

*Salmos 18:2*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>12</b>
<b>LISTA DE QUADROS E TABELAS.....</b>	<b>15</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>16</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>17</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>19</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 Adesão do biofilme à materiais restauradores e estruturas dentais.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 Margem de Cimentação.....</b>	<b>33</b>
<b>2.3 Materiais restauradores x Polimento.....</b>	<b>38</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Material .....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Métodos.....</b>	<b>47</b>
4.2.1 Delineamento experimental.....	47
4.2.2 Obtenção das amostras.....	48
4.2.2.1 Obtenção dos blocos de dentes.....	48
4.2.2.2 Obtenção dos blocos de cerâmica.....	49
4.2.3 Cimentação das amostras.....	53
4.2.4 Análise das amostras.....	55
4.2.4.1 Análise em rugosímetro.....	55
4.2.4.2 Análise morfológica em Microscópio Eletrônico de Varredura.....	55
4.2.4.3 Formação do biofilme <i>in vitro</i> .....	56
4.2.4.3.1 Contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). .....	57

4.2.4.3.2 Análise do biofilme em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).....	58
4.2.4.3.3 Análise do biofilme Microscópio Confocal de Varredura a Laser (MVCL).....	59
<b>4.3 Análise dos dados.....</b>	<b>60</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>61</b>
<b>5.1 Rugosidade superficial.....</b>	<b>61</b>
<b>5.2 Unidade Formadora de Colônia (UFC) .....</b>	<b>62</b>
<b>5.3 Biovolume e bioespessura de biofilme.....</b>	<b>63</b>
<b>5.4 Análise micromorfológica.....</b>	<b>65</b>
<b>5.5 Análise do biofilme em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).....</b>	<b>70</b>
<b>5.6 Análise do biofilme em Microscópio Confocal de Varredura a Laser(MCVL).....</b>	<b>71</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>76</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Corte da porção radicular do dente bovino e obtenção do bloco de dentina .....	49
Figura 2 - a) Máquina de preparo adaptada para padronizar a profundidade e o eixo de inserção dos blocos de dentina e cerâmica; b e c) realização dos orifícios guia.....	50
Figura 3 - Moldagem dos blocos de dente (a,b,c), obtenção do modelo (d,e), aplicação do espaçador (f) e enceramento utilizando um index para obtenção dos blocos em cerâmica (g,h,i).....	51
Figura 4 - Fixação e inclusão do enceramento dos corpos de prova no anel de revestimento.....	52
Figura 5 - Análise quantitativa da rugosidade superficial.....	55
Figura 6 - Amostras no poços da placa de 24 poços para formação dos biofilmes multi-espécies.....	57
Figura 7 - Colônias dos micro-organismos formadas nos meios de cultura. a) <i>S. mutans</i> em ágar Mitis Salivarius com Bacitracina Sacarose; b) <i>S. aureus</i> em ágar BHI com NaCl; c) <i>C. albicans</i> em ágar Sabouraud.....	58
Figura 8 - Box plots de UFC / mL $\log_{10}$ para os diferentes grupos	

experimentais. As médias são representados por sinal de mais (+), e a mediana pela linha central. A caixa representa o intervalo interquatis. Grupos com diferença estatística significativa são denotados pelo asterisco (teste de Mann-Whitney).....	63
Figura 9 - Gráfico de mediana e intervalo interquatis para os valores de biomassa dos grupos experimentais.....	64
Figura 10 - Gráfico de mediana e intervalo interquatis para os valores de bioespessura para os grupos experimentais.....	65
Figura 11 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: MBr (a,b), MBr-Pol (c,d).....	66
Figura 12 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: Pi (a,b), Pi-Pol (c,d).....	67
Figura 13 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: Foto-Expl (a,b), Foto-Expl-Pol (c,d).....	68
Figura 14 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: Foto-Bi (a,b), Foto-Bi-Pol (c,d).....	69
Figura 15 - Micrografias (4000x) representativas do biofilme formado nas amostras dos grupos Pi-Pol(a), Pi-Pol(b), Foto-Expl-Pol(c) e Foto-Bi-Pol(d).....	70

Figura 16 - Micrografias representativas do biofilme formado sobre as amostras dos grupos Br-Pol (a) e Foto-Expl-Pol(b,c,d), onde pode ser observada a presença dos três tipos de micro-organismos..... 71

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Descrição do nome comercial e fabricante dos materiais para a confecção dos corpos de prova e formação do biofilme <i>in vitro</i> .....	46
Quadro 2 - Protocolo de tratamento (método de limpeza, condicionamento ácido e cimento).....	53
Quadro 3 - Grupos considerando 2 fatores de estudo (técnica de remoção de cimento e polimento) (n = 12).....	54
Tabela 1 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, grupamentos dos testes de Tukey e resultados dos testes de t-Student para os dados de Ra ( $\mu\text{m}$ ) dos grupos experimentais.....	61
Tabela 2 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, grupamentos dos testes de Dunn e resultados dos testes de Mann Whitney dos valores de UFC/mL $\log_{10}$ para os grupos experimentais.....	62
Tabela 3 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, resultados dos testes de Mann Whitney dos valores de biomassa ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) para os grupos experimentais.....	64
Tabela 4 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, resultados dos testes de Mann Whitney dos valores de bioespessura ( $\mu\text{m}$ ) para os grupos experimentais.....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

g = grama

h = hora

l = litro

MEV = microscópio eletrônico de varredura

MCVL = microscópio eletrônico de varredura a laser

mg = miligrama

min = minuto

ml = mililitro

mm = milímetro

Ra = parâmetro Ra de rugosidade

Rq = parâmetro Rq de rugosidade

Rz = parâmetro Rz de rugosidade

s = segundo

UFC = unidades formadoras de colônias

% = percentual

°C = grau Celsius

µm = micrômetro

Pereira SMB. Colonização bacteriana na região marginal de restaurações cerâmicas: efeito do método de remoção do cimento e do polimento [tese]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2015.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes métodos de remoção do excesso de cimento e do polimento na formação de biofilme e micromorfologia na região de margem dente/restauração. A partir de dentes bovinos, foram obtidos 96 blocos de dentina (4 mm x 8 mm x 2 mm) que foram moldados e reproduzidos em gesso tipo IV, sobre os quais foram produzidos 96 blocos prensados de cerâmica (Vita PM9, Vita Zahnfabrik; 4 mm x 8 mm x 2 mm) pela técnica de cera perdida. Os blocos de dentina e seus respectivos blocos cerâmicos foram cimentados com um cimento resinoso auto-adesivo (RelyX U200, 3M ESPE) e o excesso de cimento foi removido utilizando diferentes técnicas: MBr: microbrush e fotoativação, MBr-Pol: microbrush, fotoativação e polimento, Pi: pincel e fotoativação, Pi-Pol: pincel, fotoativação e polimento, Foto-Expl: 5 s de fotoativação inicial, explorador e fotoativação final, Foto-Expl-Pol: 5 s de fotoativação inicial, explorador, fotoativação final e polimento, Foto-Bi: 5 s de fotoativação inicial, bisturi e fotoativação final, Foto-Bi-Pol: 5s de fotoativação inicial, bisturi, fotoativação final e polimento. Após 24 h, a rugosidade da região de margem das amostras foi analisada utilizando um rugosímetro (Mitutoyo SJ-400 Tóquio, Japão; três medições em cada amostra). Análise micromorfológica da região foi obtida por microscópio estereoscópico e MEV. Em seguida, as amostras foram contaminadas em caldo de sacarose com suspensão padronizada com *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* e incubados por um período de 48 h. As amostras foram analisadas quantitativamente para aderência bacteriana na região da margem por microscopia de varredura confocal a laser e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL), e analisadas qualitativamente usando MEV. Os dados de rugosidade superficial (Ra) foram submetidos à análise de variância (2-way), teste de Tukey (5%) e teste t-student. Os dados de UFC, biomassa e bioespessura aos testes de kruskal Wallis, Mann-Whitney e Dunn. A técnica de remoção influenciou estatisticamente a rugosidade (Ra,  $p <$

0,05), ao comparar grupos polidos e não polidos. A técnica MBr e MBr-Pol diferiram significativamente para os valores de UFC/mL ( $p = 0,0108$ ). Observou-se que não houve diferença significativa dos valores de biomassa e bioespessura para os grupos sem polimento, com polimento e ao comparar grupo sem polimento e com polimento ( $p > 0,05$ ). Diferentes padrões morfológicos foram observados em MEV e estereomicroscópio. Conclusão: De acordo com os resultados, pode-se concluir que, independentemente da técnica de remoção, o polimento resultou em menores valores de rugosidade superficial e menos aderência bacteriana (MBr/MBr-Pol).

Palavras-Chave: Adesão bacteriana. Polimento dentário.

*Pereira SMB. Bacterial colonization in the marginal region of ceramic restorations: effects of cement removal methods and polishing [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2015.*

## **ABSTRACT**

*This study evaluated the effects of excess cement removal techniques, with or without posterior polishing, on the biofilm formation and micromorphology in the marginal region of the tooth/restoration. From bovine teeth, 96 dentin blocks (4 x 8 x 2 mm) were produced, molded and reproduced in type IV gypsum, on which 96 pressed ceramic blocks (Vita PM9 4 mm x 8 mm x 2 mm, Vita Zahnfabrik) were produced via lost wax technique. The dentin blocks and their respective ceramic blocks were cemented with a self-adhesive resin-cement (RelyX U200, 3M ESPE) and cement excess was removed using different techniques, followed by polishing with silicone tips or, in some cases, not polished at all: MBr: microbrush and photoactivation, MBr-Pol: MBr + polishing, Pi: brush and photoactivation, Pi-Pol: PI + polishing, Photo-Expl: 5 s initial photoactivation, explorer and final curing, Photo-Expl-Pol: Photo-Expl + polishing, Photo-Bi: 5 s initial photoactivation, scalpel and final curing, Photo-Bi-Pol: Photo-Bi + polishing. After 24 hours, the samples marginal region roughness was analyzed using a profilometer (Mitutoyo SJ-400 Tokyo, Japan; three measurements on each sample). Micromorphological analyses of the region were performed by stereoscopic microscope and SEM. Then the samples were contaminated with sucrose broth standardized suspension with *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* and incubated for a period of 48 hours. The samples were quantitatively analyzed for bacterial adherence in the marginal region by confocal laser scanning microscopy and counting of colony forming units (CFU/ml), and qualitatively analyzed using SEM. Roughness data (Ra) were submitted to 2-way ANOVA, Tukey test (5%) and Student's-t tests. CFU, Biomass and bio thickness data were analyzed by Kruskal Wallis', Mann-Whitney's e Dunn's tests. The removing technique statistically influenced the roughness (Ra;  $p < 0.05$ ), when comparing polished and unpolished groups. The MBr and MBr-Pol technique differed significantly for CFU/ml values ( $p = 0.010$ ). It was observed that there was no significant difference in amounts of biomass and bio thickness on polished and unpolished groups and when compared all groups between themselves ( $p > 0.05$ ). Different morphological patterns were observed by SEM and stereomicroscope. Conclusion: margin*

*polishing after cementation of feldspar/pressed ceramic restorations is decisive for smoother surfaces achievement, as the excess cement around the edge region can increase the surface roughness in these areas influencing bacterial adhesion.*

Keywords: Bacterial adhesion. Dental Polishing.

## 1 INTRODUÇÃO

O sucesso clínico de restaurações tipo inlays/onlays e facetas laminadas cimentadas adesivamente está relacionado, dentre outros fatores, à qualidade da interface dente-restauração (Liebenberg, 1999). Fatores como desadaptação marginal, irregularidades superficiais (Anami et al., 2012), e excesso de cimento (Anami et al., 2012; Mansour et al., 2006) podem favorecer o acúmulo de microrganismos (Anami et al., 2012) comprometendo a longevidade clínica da restauração.

A retenção de cimento na superfície do dente pode promover acúmulo de placa, levando à gengivite e desmineralização da superfície radicular (Mansour et al., 2006). No caso da interface entre implante e restauração protética, o excesso de cimento tem repercussão clínica, resultando em perda óssea periimplantar, supuração e sangramento a sondagem (Korsch et al., 2015a, 2015b, 2015c; 2014a, 2014b; Korsch, Walther, 2014; Wilson, 2009) podendo levar a perda do implante.

O excesso de cimento na interface dente-restauração favorece a adesão de bactérias devido a presença de irregularidades superficiais (Anami et al., 2012). O estabelecimento de um biofilme na área promove a inflamação dos tecidos periodontais e/ou peri-implantares comprometendo a estética (Christensen, Ploeger, 2010; Lange, Pfeiffer, 2009). Paralelamente, o biofilme também tem sido estudado quanto ao efeito deletério sobre a resistência de união entre dente e restauração (Mutluay et al., 2013; Schmidlin et al., 2008; Silva et al., 2012; Zhang et al., 2013).

Devido a contingências estéticas, as margens dos preparos são comumente posicionadas no nível intrasulcular dificultando

o acesso para adequada remoção de excessos de cimento na região de margem. Consequentemente, um ambiente mais favorável aos efeitos deletérios do biofilme pode ser observado (Azevedo et al., 2012; Brentel et al., 2011; Carlen et al., 2001; Frojd et al., 2011; Hickel et al., 2007; Kantorski et al., 2009, 2008; Kawai et al., 2000; Lima et al., 2009).

Considerando o efeito da rugosidade superficial sobre a adesão e retenção microbiana (Brentel et al., 2011; Aykent et al., 2010; Al-Marzok, Al-Azzawi, 2009; Kantorski et al., 2009, 2008; Scotti et al., 2006; Tanner et al., 2005; Auschill et al., 2002; Rimondini et al., 1997), diversos protocolos de remoção do excesso de cimento nas interfaces dente-restauração (Mansour et al., 2006; Akgüngör et al., 2008; Anami et al., 2012) e implante-restauração (Korsch et al., 2015a, 2015b, 2015c; 2014a, 2014b; Korsch, Walther, 2014; Wilson, 2009) tem sido investigados. Anami et al., (2012) verificaram que a morfologia de interface dente-cerâmica em função de diferentes protocolos de remoção do excesso de cimento resinoso influenciou na adesão *in vitro* de *Streptococcus mutans*.

Contudo, evidências do efeito de diferentes métodos de remoção de cimento associados com polimento sobre a morfologia das margens das restaurações cerâmicas, rugosidade e colonização bacteriana são escassas.

Diante dos pressupostos teóricos as questões de pesquisa consideradas para o presente estudo foram: diferentes técnicas de remoção do excesso de cimento resinoso podem afetar a morfologia da região marginal e a formação de biofilme *in vitro*? O polimento das margens após a remoção do excesso de cimento pode ter efeito na rugosidade superficial e na formação de biofilme *in vitro*?

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se os métodos de remoção de excesso de um cimento resinoso na região marginal entre dente e restauração cerâmica, com ou sem polimento na região da

margem, tem efeito na rugosidade superficial e formação *in vitro* de biofilme.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Adesão do biofilme à materiais restauradores e estruturas dentais

Rimondini et al. (2002), avaliaram *in vitro* e *in vivo* a colonização bacteriana sobre superfícies de titânio e de cerâmica de zirconia (Y-TZP). Para o estudo *in vitro*, sete amostras de cada material foram avaliadas quanto à adesão dos seguintes microorganismos: *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii* e *Actinomyces viscosus*. A adesão bacteriana aos materiais foi quantificada através de avaliação espectrofotométrica. Para o estudo *in vivo*, dez indivíduos utilizaram dispositivos bucais, por um período de 24 h, com amostras de cada material fixada. Em seguida, as amostras foram removidas e analisadas em microscopia eletrônica de varredura. Os resultados demonstraram que *in vitro*, *S. mutans* aderiu mais significativamente às amostras de cerâmica de zirconia (Y-TZP) quando comparado ao titânio, enquanto *S. sanguis* pareceu aderir mais facilmente às amostras de titânio. Não foram observadas diferenças para adesão de *Actinomyces* spp e *Porphyromonas gingivalis*. *In situ*, foi observado significativamente menor acúmulo de bactérias na superfície cerâmica, com predomínio de cocos e ausência de bastonetes. Os autores concluíram que a cerâmica de zircônia pode ser considerada um material adequado para a confecção de *abutments* de implantes, pois apresentou baixo potencial de colonização bacteriana.

Scotti et al. (2006) avaliaram o efeito do processo de polimento de superfície de uma cerâmica sobre a formação de biofilme dental. Foram confeccionadas vinte amostras (forma de disco; 5 mm de

diâmetro e 1,5 mm de espessura) de zircônia tetragonal estabilizada com ítrio (cerâmica Y-TZP). Para avaliação do biofilme formado *in situ*, aparelhos orais que cobriam as coroas dos pré-molares superiores e molares foram confeccionados para voluntários que apresentavam alto nível de higiene oral. Amostras glazeadas e polidas da cerâmica foram fixadas nas regiões vestibulares e palatinas dos dispositivos. A avaliação em MEV da formação do biofilme nas amostras, foi realizada após os períodos de 20 min (8 amostras) e 1 h (8 amostras) de exposição no ambiente oral. Os resultados demonstraram que as amostras glazeadas apresentaram irregularidades na superfície (poros), já as amostras polidas apresentaram uma superfície mais lisa. Em 20 min e 1 h, a deposição de agregados de um material granular, que foram distribuídos uniformemente sobre a superfície das amostras polidas, foi observada. No entanto, nas superfícies glazeadas, este material granular depositado foi mais intensamente sobre as irregularidades semelhantes a poros. No período de 20 min, não foram observadas diferenças entre as amostras posicionadas no lado vestibular e no lado palatino, já em 1 h, a espessura do material depositado foi maior nas amostras do lado vestibular. Morfologicamente, isoladas e agregados de cocos e bacilos estavam presentes. Não foi observado nenhuma diferença na morfologia bacteriana entre superfícies polidas e glazeadas nos tempos avaliados.

Scotti et al. (2007) avaliaram a formação do biofilme dental na superfície de cerâmica de zircônia tetragonal policristalina estabilizada com ítrio (Y-TZP), como também o efeito da escovação na remoção de bactérias aderidas. Aparelhos orais foram confeccionados para dois voluntários e amostras polidas e glazeadas do material cerâmico (discos, 5 mm de diâmetro x 1,5 mm de espessura) foram fixadas nos lados direito e esquerdo. Após os períodos de 20 min, 1 h e 6 h, os voluntários escovaram manualmente as amostras do lado direito (superfície vestibular e lingual). As amostras foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura. Com relação às amostras do período

de 1 h foi feita uma análise descritiva e quantitativa (soma dos escores da presença e ausência de bactérias em 5 campos da amostra). Já para os períodos de 20 min e 6 h foi feita apenas uma análise descritiva. Foi observado em MEV a presença de um material granular nas amostras, especialmente em superfícies irregulares. Após 1 h, não houve diferença significativa entre superfícies glazeadas e polidas em termos de presença de bactérias. No entanto, superfícies glazeadas tendem a acumular mais biofilme. A escovação não removeu completamente o biofilme. Superfícies polidas parecem apresentar uma tendência menor para a formação de biofilme.

Kantorski et al. (2008) avaliaram a rugosidade superficial e adesão bacetria *in vitro* em diferentes materiais restauradores (cerâmica feldspática-VM7, cerâmica feldspática reforçada com leucita-IPS Empress, resina composta microhíbrida-Sinfony e resina composta microparticulada-VMLC). O esmalte dentário humano foi usado como controle. As amostras foram confeccionadas (5 mm de diâmetro e 2,5 mm de espessura) e avaliadas quanto a rugosidade (Ra) e adesão de *S mutans* (UFC/mL). Um total de 20 amostras de cada material foram utilizados para o teste de aderência de *S. mutans*, sendo 10 na ausência de saliva, o outras 10 na presença de saliva. Quanto a rugosidade, o esmalte (2,18  $\mu\text{m}$ ) foi o mais áspero. Não houve diferenças significativas entre as resinas micro-híbrida (0,43  $\mu\text{m}$ ) e de micropartícula (0,41 $\mu\text{m}$ ). A cerâmica feldspática reforçada com leucita (0,79  $\mu\text{m}$ ) demonstrou maior rugosidade que a cerâmica feldspática (0,48  $\mu\text{m}$ ). Com relação a adesão de *S mutans* (UFC/mL) o esmalte demonstrou a maior aderência, tanto com (6,30) e sem (6,73) revestimento de saliva. Não houve diferenças significativas entre o compósito micro-híbrido e de micropartículas; a cerâmica feldspática reforçada com leucita demonstrou níveis mais elevados de adesão do que a cerâmica feldspática. Observou-se uma correlação estatisticamente significativa entre a rugosidade da superfície e adesão sem ( $P < 0,0001$ ) e com revestimento de saliva ( $P < 0,0001$ ).

Dois voluntários utilizaram aparelhos intraorais com amostras dos materiais fixadas, por um período de 1 e 4 h. Através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi avaliado o biofilme formado *in situ*. Após uma hora, os morfotipos bacterianos predominantes foram cocos e bastonetes curtos; fímbrias ocasionalmente mediaram a adesão bacteriana. Após quatro horas, todas as amostras foram completamente cobertas pela substância com características granulares ou fibrilares. Os autores também observaram uma correlação positiva entre a adesão e rugosidade.

Pereira et al. (2008) avaliaram *in situ* a colonização bacteriana inicial em cerâmicas feldspáticas submetidos a glazeamentos diferentes. Foram produzidos, de acordo com as especificações dos fabricante, quatorze discos padronizados (diâmetro: 5 mm, espessura: 1,5 mm) de cada uma das duas cerâmicas feldspáticas micro-particuladas (VM7 e VM13, Vita). Um total de 28 amostras foram avaliadas, sendo 24 para a análise de biofilme e 4 para análise topográfica analisando as superfícies de cerâmica). As amostras de cada tipo de cerâmica foram submetidos a dois métodos diferentes de glazeamento, formando quatro grupos: VM7 glazeada com líquido Vita AKZENT<sup>®</sup> 25 (G1) e AutoGlaze (G2), VM13 glazeada com líquido Vita AKZENT<sup>®</sup> 25 (G3) e AutoGlaze (G4). Seis indivíduos (n = 6) usaram aparelhos orais com quatro espécimes de cerâmica fixados na face vestibular. Depois de 8 horas, cada amostra foi avaliado em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), quanto à presença ou ausência de colonização bacteriana em cinco campos que foram selecionados aleatoriamente. O valor para cada amostra foi a soma cumulativa dos resultados observados em cada campo. Uma amostra de cada grupo foi avaliado em um MEV para verificar o padrão topográfico. Não houve diferença em relação à colonização bacteriana entre as cerâmicas feldspáticas e entre os tipos de glazeamento.

Al-Ahmad et al. (2009) avaliaram *in situ* a adesão bacteriana inicial na superfície do esmalte ao longo de um período de 12 h, usando hibridização fluorescente (FISH). Blocos de esmalte cilíndricos (5 mm de diâmetro, 1,5 mm de altura) foram fixados na região vestibular de aparelhos individuais. Seis indivíduos utilizaram os aparelhos por diferentes períodos (2, 6 e 12 h) com o objetivo de avaliar a formação de biofilme. As amostras foram processadas para FISH e avaliadas com microscopia de varredura confocal a laser, usando sondas para eubactérias, espécies de *Streptococcus*, espécies de *Veillonella*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinomyces naeslundii*. Todas as espécies bacterianas testadas foram detectados em amostras de esmalte expostas aos fluidos orais de diferentes indivíduos. A espécie mais frequentemente detectada foi *Streptococcus* e que aumentou com o tempo (2 h :  $17,7 \pm 13,8\%$ , 6 h:  $20,0 \pm 16,6\%$ , 12 h:  $24,7 \pm 16,1\%$ ). Após 12 h, uma maior frequência de estreptococos foi registrada em comparação com 2 e 6 h (2 h vs 12 h,  $P < 0,001$ ; 6 h vs 12 h,  $P = 0.005$ ).

Aykent et al. (2010) avaliaram o efeito de procedimentos de acabamento e polimento intraoral em 4 materiais restauradores (duas resinas compostas indiretas - SR Adoro e Estenia; uma resina composta - Tetric EvoCeram; e uma cerâmica - VITABLOCS Mark II) na rugosidade superficial e adesão bacteriana, utilizando Microscopia Confocal a Laser. Os espécimes (10 x 10 x 2 mm) foram divididos em 4 grupos (n = 10): instrumento cortante rotativo de diamante (DCRI), discos de lixa (Sof - Lex), pontas de borracha de silicone (Shofu) e roda de feltro com pasta de diamante. Após, os procedimentos de acabamento e polimento, a rugosidade superficial foi medida com perfilômetro. Com objetivo de simular a formação de película adquirida, os espécimes foram revestidos com saliva artificial e mucina, e em seguida, foram contaminados com suspensão bacteriana de *S. mutans* por período de 24 h. A adesão bacteriana foi determinada usando microscópio de laser confocal. O maior valor médio de rugosidade da superfície foi realizada com o grupo SR

Adoro ( $1,04 \pm 0,3$ ), seguido por Estenia ( $0,83 \pm 0,3$ ), VITABLOCS Mark II ( $0,80 \pm 0,3$ ), e os grupos Tétrica EvoCeram ( $0,78 \pm 0,23$ ), respectivamente. No entanto, não houve diferenças significativas entre estes três grupos. Com relação ao acabamento e polimento, o grupo de pasta de diamante ( $0,95 \pm 0,2$ ) apresentou valores de rugosidade superficial mais elevados do que os grupos Sof-Lex e Shofu ( $P < 0,05$ ). A menor aderência bacteriana foi observada sobre a superfície de cerâmica do VITABLOCS Mark II ( $1029,1 \pm 142,7$ ) ( $P < 0,05$ ). A maior aderência bacteriana foi observada na superfície acabada com um instrumento cortante rotativo de diamante ( $1351,8 \pm 282,4$ ). Os grupos de pasta de diamante ( $1314 \pm 235,7$ ), Shofu ( $1300,5 \pm 232,3$ ), e Sof-Lex ( $1250 \pm 261,6$ ) seguiram o grupo DRCl. No entanto, não houve diferenças significativas entre os grupos ( $P = 0,35$ ). Houve uma relação positiva significativa entre a rugosidade da superfície e a quantidade de bactérias aderidas à superfície do material ( $r = 0,594$ ).

Com a hipótese de que a formação de biofilme oral difere entre os vários tipos de cerâmica, Bremer et al. (2011), investigaram *in vivo* o acúmulo de biofilme em cinco cerâmicas odontológicas (uma cerâmica vítrea de revestimento (Imagine Reflex, Wieland Dental Ceramics), uma cerâmica vítrea de dissilicato de lítio (IPS e.max Press, Ivoclar Vivadent), uma cerâmica de dióxido de zircônio estabilizado com ítrio (Y-TZP) (IPS e.max ZirCAD, Ivoclar Vivadent), uma cerâmica de Y-TZP prensada sob calor (DC-Zirkon, DCS Dental), e uma cerâmica de Y-TZP prensada sob calor com óxido de alumínio a 25% (Ziraldent, Metoxit). Cinco voluntários utilizaram por um período de 24 h um aparelho acrílico no arco maxilar com amostras de cerâmica ( $3 \times 3 \times 1,5$  mm) aderidas. Após exposição intra-oral, as amostras foram removidas dos aparelhos e o biofilme aderido foi avaliado em Microscópio Confocal de Varredura a Laser. Diferenças significativas foram observadas entre os vários materiais cerâmicos com relação a cobertura de superfície e espessura de biofilme ( $P < 0,001$ ). A menor cobertura de superfície foi encontrado na

DC-Zirkon, com uma média de 19,0 %, seguido por Imagine Reflex com 19,2 %, IPS e.max ZirCAD com 27,0 %, e Ziraldent com 28,0 %. IPS e.max Press mostrou-se significativamente mais elevada cobertura da superfície com 46,8 %. A menor espessura do biofilme foi medida em DC-Zirkon, com média de 1,9  $\mu\text{m}$ , seguido por Ziraldent com 4,0  $\mu\text{m}$ , imagine Reflex com 4,6  $\mu\text{m}$ , IPS e.max ZirCAD com 6,9  $\mu\text{m}$ , e IPS e.max Press com 12,6  $\mu\text{m}$ . Os autores concluíram que a zircônia é um material promissor para diversas indicações, tanto por razões mecânicas e biológicas, uma vez que o acúmulo de biofilmes patogênicos e suas doenças acompanhantes (tais como cárie e periodontite) são os principais fatores para o fracasso clínico de restaurações de dentes e implantes.

Brentel et al. (2011) avaliaram o efeito de diferentes sistemas de acabamento e polimento sobre a rugosidade da superfície, hidrofobicidade e formação *in situ* de biofilme de uma cerâmica feldspática. Noventa e seis amostras cilíndricas padronizadas de cerâmica feldspática (VM7, Vita Zahnfabrik) (5 mm de diâmetro e 2,5 mm de espessura) foram confeccionadas e glazeadas (Vita Akzent 25, VITA Zahnfabrik). As amostras foram divididas em quatro grupos de acordo com os procedimentos de acabamento e polimento: G1: nenhum acabamento foi feito e as superfícies glazeadas permaneceram inalteradas (controle); G2: acabamento com broca grossa diamantada 4138 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil); G3 acabamento com broca grossa diamantada 4138 e polimento com pontas de borracha de silicone (KG Sorensen) e G4: acabamento com uma broca grossa diamantada 4138 e polimento com pontas de borracha de silicone e disco de feltro impregnado com pasta à base de partículas finas de diamante (Diamond Excel, KG Sorensen). A análise quantitativa da rugosidade superficial e hidrofobicidade (ângulo de contato) foram determinadas em rugosímetro e goniômetro, respectivamente. Para análise do biofilme, dez voluntários utilizaram, por um período de 8 h, aparelhos orais, confeccionados individualmente, e que cobriram as coroas dos pré-molares e molares

maxilares. Uma amostra de cada grupo foi fixado ao aparelho mecanicamente na superfície vestibular dos lados direito (análise de biofilme em MEV (n = 5), e lado esquerdo (análise de biofilme em CSLM (n = 10). Foram encontradas diferenças significativas relacionadas a rugosidade da superfície. O grupo 1 apresentou menor rugosidade da superfície, enquanto que o grupo G2 apresentou a maior (G1 < G4 < G3 < G2). O grupo 1 apresentou um ângulo de contacto significativamente mais elevada do que os outros grupos, apresentando a maior hidrofobicidade. Com relação a espessura e biovolume de biofilme, os grupos 1 e 4 apresentaram menores valores, quando comparados ao 2 e 3. Os autores observaram uma correlação positiva estatisticamente significativa entre a rugosidade da superfície e biovolume ( $p < 0,0001$ ) e entre a rugosidade da superfície e da espessura do biofilme média ( $p < 0,0001$ ).

A correlação entre a formação de biofilme de estreptococos na superfície de dois materiais dentários e a atividade metabólica dos micro-organismos organizados no biofilme, foi examinada por Hahnel et al. (2012). Amostras (10 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura) de cimento de ionômero de vidro (Ketac Molar) e cerâmica (Empress 2) foram incubados com saliva e suspensões de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* para iniciar a formação de biofilme para 4 ou 24 h. A quantidade relativa de células viáveis aderentes, foi determinada utilizando ensaios para atividade metabólica de células (teste Resazurin e MTT). A atividade metabólica dos estreptococos aderentes foi analisada pela medição da produção de lactato em biofilmes formados em cinco amostras de cada material, espécies bacterianas e tempo de incubação. Resultados. Ambos os testes identificaram a formação de biofilme de *S. sobrinus* semelhante nos dois substratos. Para *S. mutans*, o teste de MTT mostrou significativamente menos estreptococos no cimento de ionômero de vidro do que na cerâmica. Com relação a atividade metabólica, foi observado para *S. sobrinus* significativamente mais elevada produção de lactato para o biofilme formado no cimento de

ionômero de vidro, em comparação com a cerâmica. Entretanto, para *S. mutans* foram identificados valores semelhantes. Os autores concluíram que uma quantidade de estreptococos cariogênicos aderente a um substrato dental não permite uma estimativa da atividade metabólica das bactérias organizadas no respectivo biofilme.

A avaliação da formação *in situ* de biofilme na superfície de cerâmicas odontológicas foi realizada por Pereira et al. (2012). Espécimes de cerâmicas feldspáticas (Vita VM7 e Vita VM13) foram submetidos às seguintes condições experimentais: sem a escovação; escovação sem dentifrício; escovação com dentifrício convencional; e escovação com um creme dental branqueador. Máquina de escovação foi usada para simular a escovação. A rugosidade de superfície e perda de massa de todos os espécimes dos grupos foram avaliados antes e após a escovação. Dez participantes usaram um dispositivo oral durante 8 h para avaliar o biofilme formado *in situ* sobre os espécimes. Microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para a análise qualitativa e quantitativa do biofilme. Para ambas as cerâmicas, escovação com creme dental branqueador resultou na perda de peso, que foi significativamente maior quando comparada com a escovação sem dentifrício ou com um creme dental convencional. O aumento da rugosidade da superfície foi notado nas amostras de cerâmica VM13, com os dois dentifrícios, enquanto apenas dentifrício convencional teve um efeito significativo sobre a rugosidade superficial de amostras de VM7. Para VM7 e VM13, não foi encontrada diferença entre as condições experimentais com relação à presença ou número de bactérias. Cocos e bastonetes curtos foram os morfotipos bacterianos predominantes. Foi observado material granular ou acelular fibrilar parcialmente coberto nos espécimes. Escovando os dentes com um creme dental branqueador resultou na perda de massa significativa nas restaurações de cerâmica, enquanto escovação com os dois dentifrícios convencionais e de clareamento pode asperizar superfícies cerâmicas. O aumento na aspereza não foi

cl clinicamente significativo para contribuir para o aumento da formação de biofilmes.

A afinidade da adesão bacteriana à vários materiais utilizados em pilar de implante têm sido estudado (Yamane et al., 2013). Os autores avaliaram diferentes materiais: titânio, liga de Au-Pt, zircônia e alumina. Além disso, disco de hidroxiapatita foi usado para simular a superfície do esmalte. A rugosidade da superfície de todos os discos foi ajustada para a uniformidade ( $Ra = 0,15 - 0,20 \mu m$ ). Trinta voluntários (25-35 anos) participaram do estudo. Para isso, foram fabricados aparelhos orais que cobriam o lado vestibular. Em ambas as superfícies vestibulares, dez discos de 5 mm (dois de cada material testado) foram anexados. Após 4 dias de utilização dos aparelhos pelos voluntários, o biofilme acumulado nas superfícies dos discos foi analisado. O número total de bactérias associadas a cada disco foi estimada utilizando o método PCR quantitativo. Os resultados mostraram que as contagens de bactérias diferiram consideravelmente entre os indivíduos. Embora a diferença da contagem bacteriana no material foi menor em comparação com a diferença entre indivíduos, a diferença entre os cinco materiais foi estatisticamente diferente. Menor acúmulo de biofilme foi observado na liga de Au-Pt do que em outros materiais.

## **2.2 Margem de cimentação**

Avaliação da remoção de cimentos odontológicos com diferentes instrumentos das superfícies de pilares de implante foi realizada por Agar et al. em 1997. Seis investigadores removeram três tipos de cimentos (ionômero de vidro, resina e fosfato de zinco) com três instrumentos (espátula revestido de ouro, espátula de plástico rígido e explorador de aço inoxidável), simulando condições clínicas. A

cimentação de pilares de implantes mostrou ser um procedimento de técnica sensível. Os resultados foram inconclusivos sobre qual combinação de instrumentos e cimento se tornou mais eficaz. Observou-se uma surpreendente quantidade de restos de cimento e riscamento de pilares. Embora os seis investigadores eram experientes nos procedimentos para próteses e implantes, houve variação em suas técnicas e sucesso na remoção de cimento. Os autores concluíram que os clínicos devem ter um cuidado especial quando se utiliza cimentos resinosos e que exploradores de aço inoxidável, provavelmente, não devem ser usados para remover o cimento de margens subgengivais de pilares.

Mitchell et al. (1999) determinaram se um método de avaliação foi o suficiente para remover todo o excesso de cimento ou se restos de cimento permanecem aderentes à superfície radicular, após cimentação de coroas. Os autores mediram por meio da perfilometria, a área da superfície, o volume, a profundidade média, e a profundidade máxima pós cimentação. Quatro grupos de amostras para coroa total foram preparadas (n = 48): grupo AC - liga metálica com linha de término chanfro, grupo G - liga de ouro com linha de término em chanfro, grupo PC - porcelana com linha de término em chanfro, e do grupo PS - porcelana com linha de término em ombro. Também, foram estudados dois cimentos (cimento resinoso e compômero), dois métodos de remoção de cimento (chumaço de propileno e bolinha de algodão) e dois perfis das superfícies dos dentes (mesial e distal). A análise de variância para o cimento, tipo coroa, método de remoção e morfologia da superfície dos dentes indicaram volumes e profundidade média significativamente maiores ( $P < 0,05$ ). Entre tipos de coroa, houve diferenças significativas no volume de cimento (grupo G > AC, G > PC, G > PS), área superficial de cimento (grupo AC > PC, G > PC, G > PS) e máxima profundidade de cimento (grupo G > CA). Não houve diferença significativa entre os dois métodos de remoção do cimento. Áreas de superfícies significativamente

maiores e profundidade máxima do cimento foram observadas na anatômica superfície mesial com ranhuras do que na superfície distal não ranhurada dos pré-molares superiores.

Akgüngör et al. (2008), avaliaram a eficácia clínica do sistema Vector em comparação com instrumentos manuais na remoção do excesso de cimento nas margens subgengivais e determinaram seu efeito sobre a saúde gengival em pacientes recebendo tratamento protético fixo. Uma total de 41 pacientes (20 homens, 21 mulheres) que necessitavam no mínimo de duas coroas metalocerâmicas em diferentes quadrantes foram selecionados. Os 156 dentes pilares foram aleatoriamente designados para o grupo Vector ou o grupo instrumento manual. Ambos os métodos foram utilizados para cada paciente, e os dentes do mesmo quadrante receberam o mesmo método para a remoção do cimento. Ao longo do estudo, todos os procedimentos de remoção de excesso de cimento, foram realizados pelo mesmo protesista. Os parâmetros clínicos utilizados foram o índice de placa (IP), o índice gengival (IG), e profundidade de sondagem (PS). Todos os parâmetros foram medidos no início do estudo antes da preparação do dente, na mesma ordem após a cimentação de restaurações provisórias, duas semanas após a cimentação final e três semanas após a cimentação final. Observou-se redução significativa nos índices de PS e IP, tanto no sistema Vector como no instrumento de mão a 2 e 5 semanas, entretanto entre os grupos não houve. Ambos os grupos testados tiveram uma redução significativa nos índices PS e IP a 2 semanas e 5 semanas ( $P < 0,001$ ), entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos testados ( $P > 0,05$ ). Não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas nas mudanças dos escores entre o início e após a cimentação de restaurações provisórias. Reduções significativas foram encontradas em 2 e 5 semanas para o grupo Vector ( $P < 0,001$ ), enquanto que a única diferença significativa para o grupo instrumento de mão pode ser demonstrada em 5 semanas ( $p = 0,001$ ). Diferenças

significativas entre os grupos ocorreu a 2 duas semanas ( $P = 0,003$ ) e 5 semanas ( $p = 0,002$ ), com o grupo Vector tendo a maior redução no IG. Os autores verificaram que embora tenham sido observadas, em ambos os métodos, reduções semelhantes no Índice de Placa e Profundidade de Sondagem, o sistema Vector produziu significativamente maior benefício na redução de índice gengival.

Mansour et al. (2006) compararam a quantidade de cimento resinoso deixados aderentes na superfície do dente/coroa, após métodos de remoção do excesso de cimento. Quarenta dentes foram preparados e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, de acordo com os métodos de fabricação da coroa: porcelana feldspática e técnica da lâmina de platina; porcelana feldspática e técnica refratária; coroa de resina composta e técnica CAD/CAM e coroa de porcelana feldspática e técnica CAD/CAM. Metade das coroas cimentadas foram alocados no grupo A: remoção do excesso de cimento sacudindo-o (“flick off”) com um instrumento plástico 3 min após a polimerização inicial, e Grupo B: remoção do excesso de cimento usando bolinha de algodão. A perfilometria foi utilizada para realizar as medições morfológica de volume do excesso cimento ( $\text{mm}^3$ ), média máxima e média de profundidade do excesso de cimento (mm) e área de superfície do excesso de cimento ( $\text{mm}^2$ ). Não foram observadas diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) entre os quatro tipos de fabricação da coroa com relação ao volume e média de profundidade de cimento resinoso remanescente. Os autores observaram também que a remoção com instrumento plástico resultou significativamente maior volume, profundidade média e profundidade máxima média de cimento retido do que o método com bolinha de algodão. No entanto, não houve diferença significativa na área de superfície do excesso de cimento retido entre os dois métodos. Os autores concluíram que após a remoção do excesso de cimentação, quantidades de cimento permaneceram aderentes à superfície dos dentes de todos os espécimes na interface dente coroa.

Anami et al. (2012) avaliaram *in vitro* a influência de vários protocolos para remover o excesso de cimento resinoso após a cimentação adesiva na rugosidade e formação de biofilme. Inicialmente, foram obtidos vinte e oito blocos de esmalte, que foram encerados. A partir dos enceramentos, foram obtidos os correspondentes blocos cerâmicos, que foram injetadas sob pressão. Em seguida, os blocos cerâmicos foram cimentados aos blocos de esmalte, utilizando um cimento resinoso dual e o excesso de cimento resinoso foi removido, por meio de diferentes técnicas: TS: espátula de Teflon; BR: microbrush; BR+: microbrush e polimento; SB+: lâmina de bisturi e polimento. A rugosidade (Ra/Rz/RSm) na região de margem foi analisada. Após autoclavadas, as amostras foram avaliadas *in vitro*, quanto a adesão de *Streptococcus mutans*, por período de 48 h. As amostras foram analisadas quantitativamente para a adesão bacteriana em Microscópio Confocal de Varredura a Laser (CLSM) e contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), e analisadas qualitativamente em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Os resultados demonstraram que os valores de rugosidade variaram de 0,96 a 1,69  $\mu\text{m}$  para Ra ( $p > 0,05$ ), de 11,59 a 22,80  $\mu\text{m}$  para Rz ( $p = 0,02 < 0,05$ ) e de 293,2 para 534,3  $\mu\text{m}$  para RSm ( $p = 0,00$ ). A aderência bacteriana variou entre 1.974.000 e 2.814.000 UFC/ml ( $p = 0,00$ ). A espessura média do biofilme variou entre 0,477 e 0,556  $\mu\text{m}$  ( $p > 0,05$ ), enquanto que os valores de biovolume entre 0,388 e 0,547  $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$  ( $p = 0,04$ ). A técnica de remoção influenciou significativamente a adesão bacteriana ( $p=0,00$ ). BR ( $1.97 \times 10^6 \pm 4.19 \times 10^5$  UFC/mL<sup>B</sup>) e BR+ ( $2.13 \times 10^6 \times 5.24 \times 10^5$  CFU/mL<sup>B</sup>) apresentaram valores de adesão bacteriana que foram significativamente mais baixos do que TS ( $2.81 \times 10^6 \pm 3.56 \times 10^5$  CFU/mL<sup>A</sup>), enquanto SB+ ( $2.31 \times 10^6 \pm 4.84 \times 10^5$  CFU/mL<sup>AB</sup>) foi semelhante aos outros grupos. Os valores mais baixos de rugosidade, a adesão bacteriana, a espessura do biofilme e biovolume foram encontrados com a BR, enquanto TS apresentaram os maiores valores para a maioria dos parâmetros. Imagens de MEV

confirmaram os valores quantitativos. Os autores concluíram que a morfologia e a rugosidade da margem da restauração afetam o acúmulo de *S. mutans*.

### 2.3 Materiais restauradores x polimento

A relação entre a rugosidade superficial e quantidade de biofilme dentário foi avaliada por Kawai et al. (2000). Os autores avaliaram a quantidade de biofilme dentário formada *in vitro* e rugosidade superficial em diferentes materiais odontológicos. 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), que foram em seguida glazeados (IPS Glaze- Ivoclar). As amostras foram distribuídas 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. Em seguida, a rugosidade de superfície foi medida nas amostras de 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 biofilme diminuíram com o aumento do polimento. Entretanto, houve maior quantidade de biofilme em superfícies glazeadas comparadas às superfícies polidas com pasta diamantada.

Al-Wahadni (2006) avaliaram, *in vitro*, as alterações na rugosidade superficial de diferentes cerâmicas glazeadas, não glazeadas

e polidas. Foram confeccionadas amostras padronizadas de cerâmica IPS Empress 2 e In-Ceram Alumina/Vitadur Alpha, que, em seguida, foram desgastadas com rodas abrasivas e lixas de silicone a fim de se obter superfícies planas. As amostras foram divididas conforme os diferentes tratamentos da superfície da cerâmica: aplicação de glaze; polimento com diferentes pontas do Kit Shofu para cerâmica, e superfície não glazeada. Os autores observaram 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.

A influência de diferentes métodos de acabamento e polimento na rugosidade superficial de cerâmicas também foi avaliada por Bottino et al. (2006). Discos padronizados de cerâmica feldspática Vitadur Alpha foram confeccionados, polidos com lixas abrasivas em diferentes granulações e glazeados (glaze Vita Akzent 24). Após, as amostras foram divididas em grupos conforme o tipo de acabamento e polimento usado: G1 - controle (glaze); G2 – broca; G3 - broca e pontas de silicone; G4 - broca, pontas de silicone e discos de feltro com pasta diamantada; e G5 - broca, pontas de silicone e discos de feltro impregnados com pasta diamantada. Avaliação da rugosidade superficial e análise topográfica das superfícies por meio de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas. Os resultados demonstraram que G1 apresentou a menor rugosidade e G2 apresentou a maior. Somente um método de polimento (G4) promoveu rugosidade similar ao glaze (G1). G3 apresentou

rugosidade significativamente maior que G4 e G5, os quais foram semelhantes entre si.

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 (Ra, Rq, Rz).

Kou et al. (2006) avaliaram em MEV o efeito do acabamento e polimento na rugosidade superficial de 5 diferentes materiais cerâmicos usados para infraestrutura. Os materiais utilizados foram: 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. Os resultados demonstraram que antes do acabamento, as cerâmicas 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. 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.

Aravind et al. (2013) compararam o efeito de quatro diferentes sistemas de acabamento e polimento na rugosidade de materiais cerâmicos. Um total de 50 corpos de prova foram confeccionados em forma de discos (13 mm de diâmetro e 0,6 mm de espessura). Inicialmente, as amostras foram, desgastadas com pontas de diamante 125  $\mu\text{m}$  em movimento unidirecional para criar rugosidade da superfície simulando ajuste oclusal. Os espécimes foram distribuídos em cinco grupos (n = 10): Grupo I: acabamento com disco sof lex, Grupo II: acabamento com pontas de silicone branca e borracha cinza, Grupo III: acabamento com ponta diamantada, Grupo IV: acabamento com ponta diamantada seguido de silício branco e borracha cinza e Grupo V: auto glazadas. Após acabamento, os valores de Ra, Rq, Rz e Rt mostraram uma tendência de queda para níveis muito inferiores aos valores obtidos após a preparação das amostras. Valores de Ra do Grupo III foram maiores e o aumento foi significativo. Os autores concluíram que os procedimentos de acabamento e polimento tem um papel significativo na redução da rugosidade das cerâmicas. Os valores de Ra, Rq, Rz e Rt sugerem que Sof lex é o mais eficiente de todos os sistemas testados seguido de autoglaze.

Sethi et al. (2013) compararam a rugosidade de superfície média de uma cerâmica auto-glazeada, uma superfície polida e uma superfície re-glazeada. Duas porcelanas feldspáticas (VITA VMK94 e IVOCLAR CLASSIC) foram utilizadas no estudo. Foram confeccionadas vinte espécimes de cada cerâmica na forma de barra (10 mm de comprimento e 4 mm de espessura). Em seguida, um instrumento de corte rotatório diamantado de média granulação foi utilizado para remover a camada de glaze. A superfície da metade das amostras foram re-glazeadas e a outra metade foram polidas utilizando uma sequência

definida de acabamento e polimento: kit de polimento (Shofu), disco branco/roda de polimento, cone de silicone com pasta polimento diamantada e, finalmente, com pequena roda de feltro com pasta de pedra-pomes. A rugosidade da superfície (Ra) ( $\mu\text{m}$ ) das amostras foi avaliada em perfilômetro e microscópio eletrônico de varredura. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa tanto quantitativa como qualitativamente, entre a rugosidade da superfície reglazeada e a polida. Além disso, ambas as superfícies polidas e reglazeadas apresentaram-se melhores do que a superfície autoglazeada. O polimento da superfície da cerâmica ajustada, promoveu redução da rugosidade da superfície significativamente de tal modo que a diferença entre a rugosidade da superfície polida e superfície reglazeada não foi significativa. Portanto polimento pode ser uma boa alternativa para reglazear para acabamento de superfície de porcelana ajustada.

O efeito de diferentes métodos de acabamento e polimento na rugosidade das superfícies cerâmicas foi avaliado por Vieira et al. (2013). 144 espécimes cerâmicas de VITA VM 7, VM9 e VM 13 (VITA Zahnfabrik) foram fabricados e submetidos ao desgaste utilizando pontas diamantadas. Eles foram, em seguida, dividido em 15 grupos (cinco de cada tipo de cerâmica). Grupos 1, 6 e 11 controle positivo (glaze); Grupos 2, 7 e 12 de controle negativo (sem polimento); Grupos 3, 8 e 13-polido com borrachas abrasivas (Edenta), disco de feltro e pasta de polimento diamantada; Grupos 4, 9 e 14-polido com borrachas abrasivas (Shofu), disco de feltro e pasta de polimento diamantada; Grupos de 5, 10 e 15 polidas com discos de óxido de alumínio (Sof-Lex, 3M-ESPE), disco de feltro e pasta de polimento diamantada. Após, a rugosidade das superfícies das amostras foram medidas. Pode-se observar diferença estatisticamente significante entre os grupos controle positivo e os demais grupos em todos os tipos de cerâmica. Os autores concluíram que dentro das limitações do estudo *in vitro*, os métodos de acabamento e polimento mecânico não foram capazes de fornecer uma

superfície lisa como a superfície glazeada para as cerâmicas testadas. A cerâmicas se comportaram de maneira semelhante em relação aos métodos de acabamento e métodos de polimento.

Akar et al. (2014) determinaram os efeitos de diferentes protocolos de acabamento e polimento sobre a rugosidade da superfície, mudança de cor e translucidez de restaurações de cerâmica. Espécimes em forma de disco padronizados (1,5 x 10 mm) foram fabricados a partir de três diferentes materiais cerâmicos (óxido de alumínio-AL, óxido de zircônio-ZR, dissilicato de lítio-LIT), e recoberto (V) com cerâmica de dentina e distribuídos nos seguintes grupos: ALV, ZRV e LITV. O grupo de metal e cerâmica funcionou como controle. Em seguida, foram testados quatro métodos de acabamento e polimento da superfície diferentes: jateamento de partículas com 50 mm  $Al_2O_3$ , Kit de acabamento e polimento (Ceramaster, Shofu), kit acabamento e polimento (Ceramaster, Shofu) mais pastas de diamante, e autoglaze da cerâmica de revestimento. As amostras foram analisadas quanto a rugosidade da superfície, mudança de cor e translucidez. Os espécimes submetidos ao jateamento de com partículas apresentou maior média de rugosidade superficial em todos os grupos ( $P < 0,05$ ). O polimento com kit de ajuste e autoglaze revelaram valores de rugosidade da superfície estatisticamente semelhantes em todos os grupos ( $P > 0,05$ ). Com o método de pasta de polimento, menor rugosidade superfície foram alcançados no ZRV. Os autores observaram que nenhum protocolo de acabamento e polimento de superfície pode ser recomendado para obter uma superfície mais lisa e menor mudança de cor, sem afetar a translucidez das cerâmicas testadas. Para todos os tipos de cerâmica, as superfícies mais lisas foram obtidos após autoglaze.

### 3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste trabalho foram:

- a) Avaliar o efeito de diferentes métodos de remoção do excesso de cimento na rugosidade e formação *in vitro* de biofilme;
- b) Avaliar o efeito do polimento dos diferentes métodos de remoção do excesso de cimento na rugosidade e formação *in vitro* de biofilme;
- c) Avaliar a micromorfologia superficial da região de margem da restauração, em função dos diferentes métodos de remoção do excesso de cimento e polimento.

As hipóteses deste trabalho foram:

- a) Os diferentes métodos de remoção do excesso de cimento apresentariam diferença estatística significativa quanto à rugosidade;
- b) Os diferentes métodos de remoção do excesso de cimento apresentariam diferença estatística significativa quanto à formação *in vitro* de biofilme;
- c) Os diferentes métodos de remoção do excesso de cimento apresentariam diferença

estatística significativa quanto à  
micromorfologia superficial.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Os materiais que foram utilizados no trabalho estão listados no quadro a seguir (Quadro 1).

Quadro 1 – Descrição do nome comercial e fabricante dos materiais para a confecção dos corpos de prova e formação do biofilme *in vitro*

(continua)

<b>Material</b>	<b>Nome comercial, Fabricante</b>
Ágar infusão cérebro coração	Ágar BHI ( <i>Brain Heart Infusion</i> , Difco, Detroit, EUA)
Ágar Saboraud	Ágar Saboraud (Difco, Detroit, EUA)
Ágar Mitis Salivarius	(Difco, Detroit, EUA)
Ágar Sabouraud	(Difco, Detroit, EUA)
Cera para enceramento	Cera azul para enceramento (Ceras Babinete, Maringá, Brasil)
Cerâmica injetada	PM9 (Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha)
Cimento resinoso autoadesivo	RelyX U200 (3M, ESPE, St. Paul, EUA)
Disco de lixa	Lixa de carbeto de silício SiC (Vick <sup>®</sup> , São Paulo, Brasil)
Disco diamantado	Disco diamantado Superflex (Edenta, Suíça)
Esmalte de unha	Esmalte (Colorama Maybeline, São Paulo, Brasil)
Espaçador	Vita In Ceram Interespaçador (Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha)
Fita adesiva dupla-face de carbono	Fita adesiva dupla-face de carbono (SPI, West Chester, PA, EUA),
Gesso tipo IV	Durone (Dentsply, Petrópolis, Brasil)
Kit de corantes	Live/Dead <sup>®</sup> Bac Light tm Bacterial Viability and Counting (Molecular

Quadro 1 – Descrição do nome comercial e fabricante dos materiais para a confecção dos corpos de prova e formação do biofilme *in vitro*

(conclusão)

<b>Material</b>	<b>Nome comercial, Fabricante</b>
	Probes, Eugene, EUA)
Lâmina de bisturi nº 12	Lâmina de bisturi nº 12 (Solidor, Brasil)
Lâmina de vidro	Lâmina de vidro (KudoZ)
Lixa d'água	Lixa d'água – granulações nº 400, 600, 800, 1200, 1500, 2500 (3M, St. Paul, EUA)
Micropipeta	Micropipetas de 1 ml e 1 µL (Labmate, HTL, EUA)
Pasta diamantada	Diamond Excel (FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, Brasil)
Ponta diamantada	Ponta diamantada (KG Sorensen, Cotia - SP - Brasil)
Pincel	Pincel de pelo de marta redondo filete T308 (Condor, São Bento do Sul, Brasil)
Placa de cultura de células	Placa estéril de cultura de células com 24 poços (TPP®, Suíça)
Pontas siliconadas	(Shofu Dental Corporation, San Marcos, EUA)
Silano	Ceramic Primer (3M, ESPE, St. Paul, EUA)
Silicone de Adição	Express (3M, ESPE, St. Paul, EUA)

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Delineamento experimental

Os fatores avaliados no presente estudo foram:

- a) técnica de remoção do excesso de cimento (quatro níveis): remoção com microbrush;

remoção com pincel; remoção com explorador (com fotopolimerização prévia) e remoção com bisturi (com fotopolimerização prévia);  
b) polimento (dois níveis): ausência e presença.

As variáveis respostas consideradas foram: rugosidade superficial, formação biofilme e micromorfologia.

A amostra foi considerada a unidade experimental.

#### 4.2.2 Obtenção das amostras

##### 4.2.2.1 Obtenção dos blocos de dentes

A partir de incisivos bovinos recém extraídos, foram obtidos 96 blocos de dentina (Figura 1). Os dentes foram limpos com curetas periodontais, escovas de Robinson e pedra pomes. As coroas foram removidas sob constante refrigeração por discos diamantados (Edenta, Suíça) montados em peça reta. O esmalte da face vestibular foi removido com lixa d'água (n° 100) acoplada em politriz (METASERV 3000, Buehler, IL, USA), até que ocorresse a exposição de uma área de 8 x 4 mm de dentina superficial. Em seguida, a dentina foi recortada da mesma maneira até atingir um bloco de 2 mm de espessura. As dimensões finais de 8 x 4 x 2 mm (Figura 1) foram conferidas por paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, Brasil). Os blocos permaneceram imersos em água destilada em estufa (Orion 502, Fanem, São Paulo, Brasil) a 37 °C até o momento da cimentação.

A *smear layer* da superfície da dentina para a cimentação de todos os blocos foi padronizada por polimento com lixa d'água nº 800, em politriz, sob refrigeração constante.

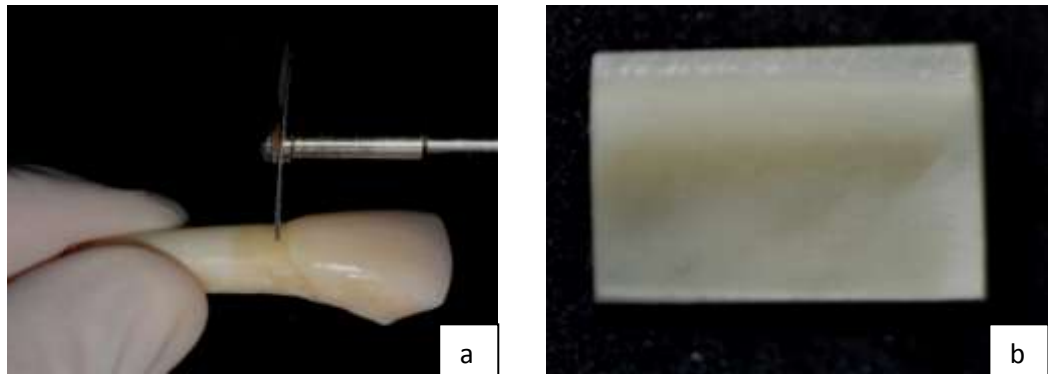


Figura 1 – Corte da porção radicular de dente bovino(a) e obtenção do bloco de dentina(b).

#### 4.2.2.2 Obtenção dos blocos de cerâmica

Com objetivo de viabilizar o adequado posicionamento dos blocos cerâmicos durante a cimentação sobre a superfície de dentina, duas cavidades (guias) com 1 mm de profundidade foram feitas com ponta diamantada tronco cônica (Edenta, Suíça) na dentina dos blocos. Essas cavidades foram realizadas em uma máquina de preparo adaptada para padronizar a profundidade e o eixo de inserção (Figura 2).

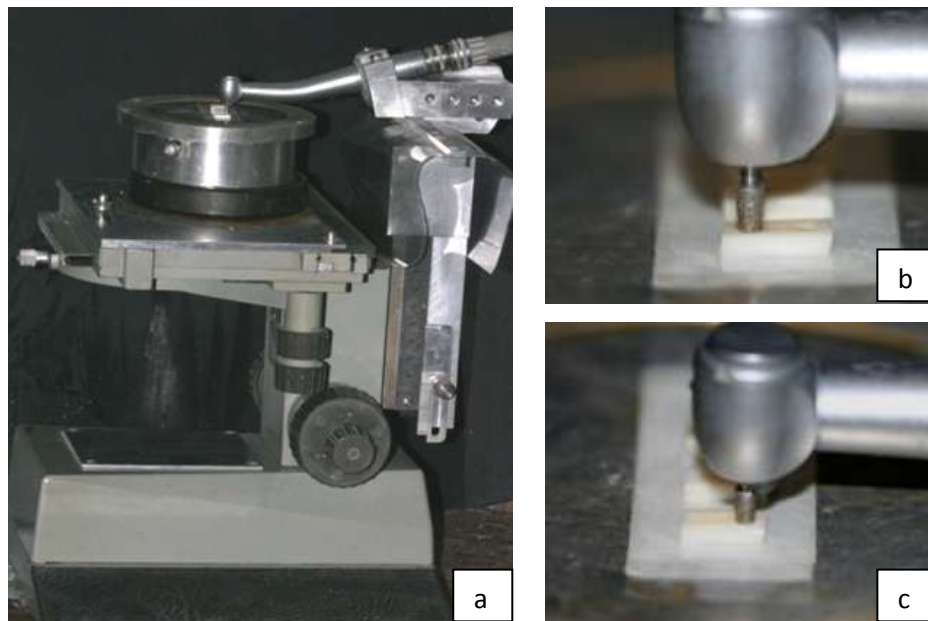


Figura 2 - a) Máquina de preparo adaptada para padronizar a profundidade e o eixo de inserção dos blocos de dentina e cerâmica; b e c) realização dos orifícios guia.

A superfície de dentina de cimentação (4 x 8 mm) foi moldada com silicone de adição (Express - 3M, ESPE, St. Paul, EUA). Os modelos em gesso tipo IV (Durone-Dentsply, Petrópolis, Brasil) foram obtidos, sobre os quais enceramentos com dimensões similares ao bloco de dentina foram feitos para cada espécime. Previamente ao enceramento, foi aplicado o Vita In Ceram Interespaçador para facilitar a adaptação das peças (Figura 3).

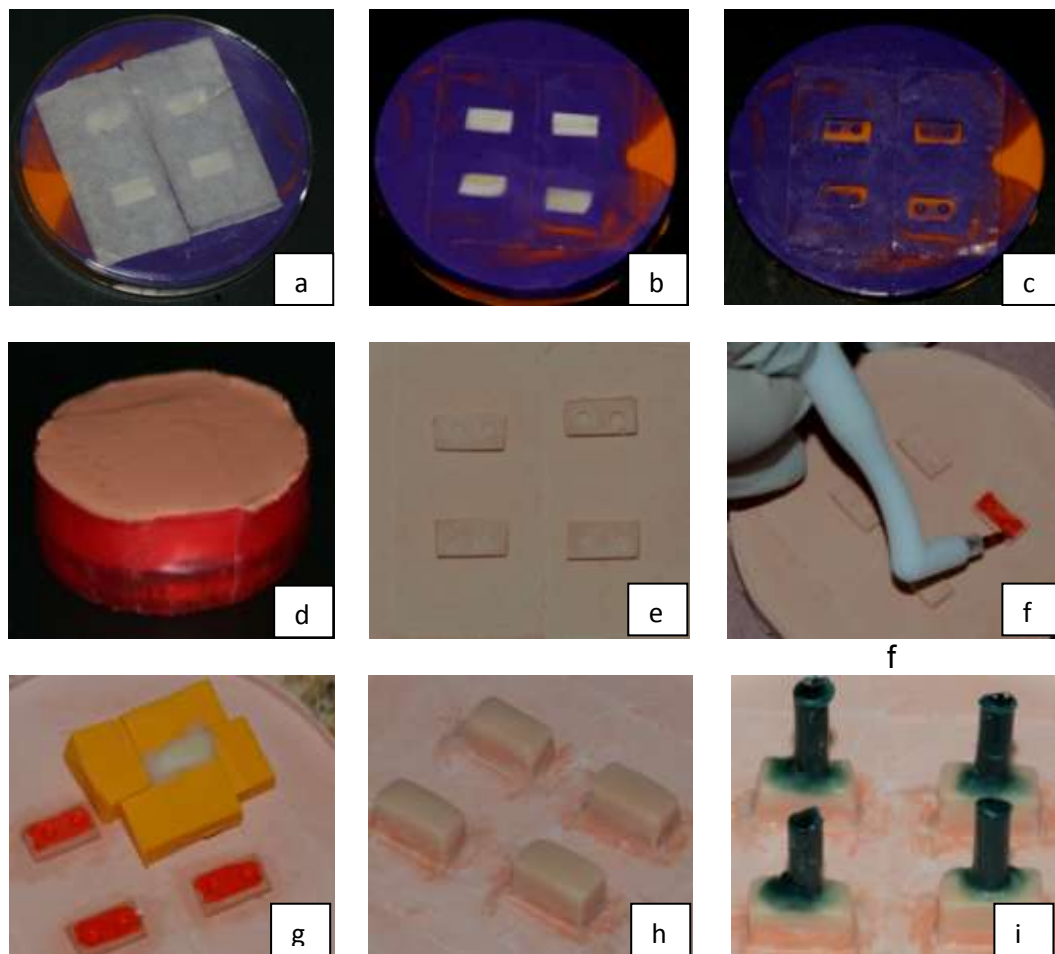


Figura 3 - Moldagem dos blocos de dente (a,b,c); obtenção do modelo (d,e); aplicação do espaçador (f); enceramento utilizando um index para obtenção dos blocos em cerâmica (g,h,i).

Para a confecção dos blocos cerâmicos, foi utilizada a técnica da cera perdida seguida de injeção do material cerâmico. Para tanto, os enceramentos obtidos foram incluídos em revestimento (Figura 4) para confecção dos blocos em cerâmica injetada sob pressão (PM9 – Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha) em forno Vita Vacuumat 6000 MP (Vita Zahnfabrik, Alemanha), seguindo instruções do fabricante.



Figura 4 - Fixação e inclusão do enceramento dos corpos de prova no anel de revestimento.

Previamente a cimentação e com o objetivo de padronizar as dimensões dos blocos e facilitar as análises posteriores, os blocos correspondentes de cerâmica e dentina foram polidos, simultaneamente, com exceção da face de cimentação, com lixas d'água de granulação decrescente ( $n^0$  400, 600, 800, 1.200, 1.500) em lixadeira/politriz METASERV 3000 (Buehler, IL, USA). Em seguida, todos os blocos foram submetidos à limpeza em aparelho ultra-sônico durante 8 min (Vitasonic, Vita Zanhfabrik, Alemanha) em álcool isopropílico.

Previamente à cimentação das amostras, os blocos de cerâmica e dente foram analisados no estereomicroscópio para avaliação da presença de bolhas. As 96 amostras de cerâmica/dente foram numeradas e aleatoriamente alocadas em 8 grupos ( $n = 12$ ), utilizando uma ferramenta da página da internet ([www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)).

#### 4.2.3 Cimentação das amostras

Para realização desta etapa, um protocolo de tratamento dos blocos de dentina e cerâmica foi seguido, como descrito no quadro 2.

Quadro 2 - Protocolo de tratamento (método de limpeza, condicionamento ácido e cimento)

<b>Blocos</b>	<b>Protocolo de tratamento</b>
Dente	Limpeza dos dentes com pedra-pomes e água Secagem com jatos de ar sem ressecar a dentina
Cerâmica	Limpeza com álcool isopropílico por 8 min em ultra-som; Condicionamento com ácido fluorídrico 10% por 60 s; Lavagem e secagem com jatos de ar Aplicação do silano Ceramic Primer (3M, St. Paul, EUA) e secagem por 5 s com jato de ar; Aplicação do cimento resinoso; Fotopolimerização por 40 s em cada face.

Para a cimentação dos blocos de cerâmica sobre as blocos correspondentes de dente, o cimento resinoso U200 (3M ESPE, St. Paul, EUA) foi utilizado, sem qualquer pré-tratamento da superfície dental, como preconizado pelo fabricante. Dessa forma, o cimento resinoso foi manipulado, como recomendado pelo fabricante, e aplicado com o auxílio de uma espátula plástica sobre a superfície de cimentação da amostra de cerâmica, que foi posicionada em sua respectiva amostra de dentina. O conjunto foi posicionado em um delineador modificado com a superfície de cimentação perpendicular à aplicação de uma carga vertical estática de 750 g por 1 min utilizada durante a fotopolimerização. Os excessos de cimento foram removidos de acordo com as técnicas descritas no quadro 2, e cada lado do conjunto foi fotopolimerizado por 40 s em cada face. Depois de 5 min, os blocos cimentados foram armazenados em água destilada a 37° C por 24 h, até a preparação das amostras para as análises. As amostras foram pintadas com esmalte, deixando apenas um face livre para controlar a área analisada.

Quadro 3 - Grupos considerando 2 fatores de estudo (técnica de remoção de cimento e polimento) (n = 12)

Grupos	Técnica de remoção de cimento	Polimento	Procedimentos
MBr	<i>Microbrush</i>	ausência	Remoção do excesso com <i>microbrush</i> e fotopolimerização
MBr-Pol		presença	Remoção do excesso com <i>microbrush</i> , fotopolimerização e polimento com pontas de silicone
Pi	Pincel	ausência	Remoção do excesso com pincel e fotopolimerização.
Pi-Pol		presença	Remoção do excesso com pincel, fotopolimerização e polimento com pontas de silicone
Foto-Expl	Fotopolimerização e explorador	ausência	Fotopolimerização por 5 s, remoção do excesso com explorador, fotopolimerização final
Foto-Expl-Pol		presença	Fotopolimerização por 5 s, remoção do excesso com explorador, fotopolimerização final, polimento com pontas de silicone
Foto-Bi	Fotopolimerização e lâmina de bisturi	ausência	Fotopolimerização por 5 s, remoção do excesso com lâmina de bisturi #12, fotopolimerização final
Foto-Bi-Pol		presença	Fotopolimerização por 5 s, remoção do excesso com lâmina de bisturi #12, fotopolimerização final, polimento com pontas de silicone

Microbrush (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brazil); pontas de polimento (Shofu, San Marcos, USA); Pincel (Kota, Cotia, São Paulo, Brazil).

#### 4.2.4 Análise das amostras

##### 4.2.4.1 Análise em rugosímetro

A rugosidade superficial ( $R_a$ ) foi realizada após as diferentes técnicas de remoção do cimento. A análise quantitativa da rugosidade superficial foi realizada em um rugosímetro Mitutoyo SJ 400 (Tóquio, Japão). Três medidas foram realizadas sobre a superfície das amostras (aproximadamente 1 mm de distancia entre as medidas). A ponta do rugosímetro realizou um percurso de 3 mm. Um valor médio para cada amostra foi obtido a partir das três medidas (Figura 5).



Figura 5 - Análise quantitativa da rugosidade superficial.

##### 4.2.4.2 Análise morfológica em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

Uma amostra de cada grupo, não exposta à contaminação bacteriana, foi avaliada em MEV para caracterizar a região da interface quanto ao excesso de cimento e qualidade da interface.

#### 4.2.4.3 Formação do biofilme *in vitro*

Os biofilmes foram formados conforme seguinte metodologia: inicialmente foram preparadas suspensões padronizadas utilizando cepas padrão de *Candida albicans* (ATCC 18804), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Streptococcus mutans* (ATCC 35688). As cepas de *C. albicans* foram repicadas em ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, USA). As cepas de *S. aureus* e *S. mutans* foram repicadas em ágar infusão cérebro coração - BHI (Brain Heart Infusion, Difco, Detroit, USA). Os micro-organismos foram incubados em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h. Todos os ensaios com cepas de *S. mutans* foram incubados em estufa bacteriológica sob condições de microaerofilia (5% de CO<sub>2</sub>). Decorrido o período de incubação, colônias dos micro-organismos foram suspensas em solução fisiológica esterilizada (NaCl 0,9%), e ajustada em espectrofotômetro (B 582, Micronal, São Paulo, Brasil), até obtenção de suspensão padronizada contendo 10<sup>6</sup> células/mL. Os parâmetros de densidade óptica e comprimento de onda utilizados foram respectivamente: 0,284 e 530 nm para *C. albicans*, 0,374 e 490 nm para *S. aureus*, e 0,620 e 398 nm para *S. mutans*.

Para formação dos biofilmes, foi utilizado o caldo proposto por Gybbons e Nygaard (1968), composto por: 20 g de tripticase, 2 g de NaCl, 3 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 120 mg de MgSO<sub>4</sub>, 15 mg de MnSO<sub>4</sub>, e 50 g de C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>, dissolvidos em 1000 ml de água destilada. O caldo foi esterilizado em autoclave a 121°C por 15 min. Os corpos-de-prova, esterilizados por radiação gama (20 KGy), foram colocados, com o auxílio de pinça estéril, na primeira fileira de placas de 24 poços (Costar Corning, New York, EUA). Em seguida, foram adicionados 2 mL do caldo para formação de biofilme *in vitro* em cada poço da placa. Para a formação dos biofilmes multi-espécies, foram

inoculados 0,1 mL de cada suspensão microbiana preparada (Figura 6). As placas foram mantidas incubadas em estufa bacteriológica à 37 °C por 48 h.



Figura 6 - Amostras no poços da placa de 24 poços para formação dos biofilmes multi-espécies

#### 4.2.4.3.1 Contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL)

A fim de remover as células microbianas não-aderidas após o período de formação dos biofilmes, foi realizada a lavagem dos corpos-de-prova. Inicialmente foi removido 2 mL do caldo de cada poço, em seguida, colocado 2 mL de solução fisiológica esterilizada, e a placa foi agitada por 5 min em agitador orbital (Solab, Piracicaba, Brasil).

Após a lavagem das amostras, foram quantificados os números de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) dos micro-organismos. A contagem das UFC foi realizada em 10 amostras de cada grupo. Cada corpo-de-prova foi colocado em tubo de centrifuga contendo 10 mL de solução fisiológica esterilizada, e em seguida

homogeneizado por 30 s, utilizando homogeneizador ultra-sônico (Sonoplus HD 2200 – Bandelin Eletronic) com potência de 50 W, a fim de desprender o biofilme. A suspensão microbiana obtida foi considerada com fator diluição  $10^{-1}$ , e a partir desta foram realizadas novas diluições decimais ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ) em solução fisiológica esterilizada. Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram semeadas, em duplicatas, em placas de Petri com meios de cultura seletivos para cada microorganismo, como segue: a) *C. albicans* em ágar Sabouraud dextrose com 50 mg/L de cloranfenicol (União Química, São Paulo, Brasil); b) *S. aureus* em ágar BHI com NaCl (Difco, Detroit, USA); e, c) *S. mutans* em ágar Mitis Salivarius (Difco, Detroit, USA) acrescido de 0,2 UI/mL de bacitracina (União Química, São Paulo, Brasil) e 15% de sacarose (MSBS). As placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 48 h. Após o período de incubação, as placas contendo de 30 a 300 colônias foram contadas e o número UFC/mL determinado (Figura 7).

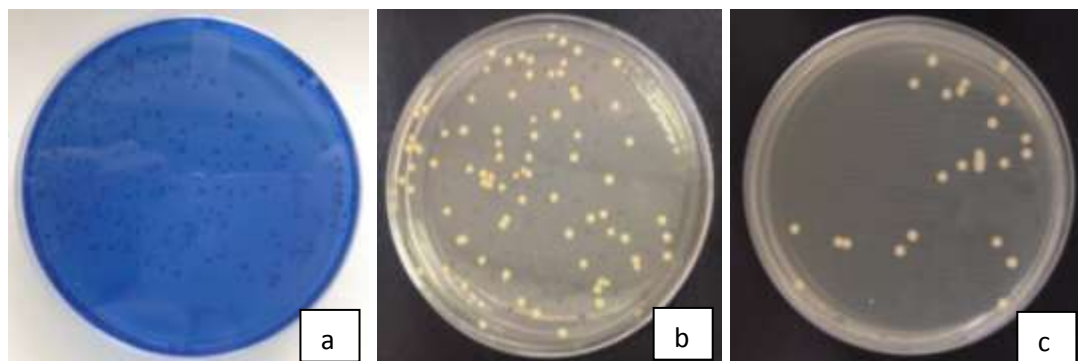


Figura 7 - Colônias dos micro-organismos formadas nos meios de cultura. a) *S. mutans* em ágar Mitis Salivarius com Bacitracina Sacarose; b) *S. aureus* em ágar BHI com NaCl; c) *C. albicans* em ágar Sabouraud.

#### 4.2.4.3.2 Análise do biofilme em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

Inicialmente, duas amostras de cada grupo foram fixadas por 1 h utilizando o protocolo de imersão em solução de glutaraldeído 2,5% e desidratadas, subseqüentemente, por uma série de passagens em concentrações crescentes de álcool etílico (10%, 25%, 50%, 75%, 90%, por 20 min e 100% por 1 h).

Para análise qualitativa em MEV (Inspect S50, FEI Company, Brno, República Tcheca) as mesmas amostras foram fixadas em porta amostras com fita adesiva dupla-face de carbono (SPI, West Chester, PA, EUA), com uma das superfícies laterais para cima, para então serem metalizadas com liga de ouro-paládio (Polaron SC 7620 Sputter Coater, Quorum Technologies, Newhaven, Reino Unido) (tempo: 130 s, corrente de 10-15mA, vácuo de 130mTorr, taxa de metalização: 3,5 nm/minuto, camada de Pd-Au de aproximadamente 80Å). O MEV foi operado em 20 kV.

#### 4.2.4.3.3 Análise do biofilme em Microscópio Confocal de Varredura a Laser (MCVL)

Dez amostras de cada grupo experimental foram analisadas utilizando-se Microscopia Confocal de Varredura a Laser (LSM 510 META, Zeiss). As amostras foram retiradas do meio de cultura e então posicionadas com auxílio de uma pinça clínica em uma lâmina de vidro e coradas utilizando-se o kit Live/Dead<sup>®</sup> Bac Light<sup>™</sup> Bacterial Viability and Counting (Molecular Probes, Eugene, EUA).

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 isopropídeo de cor vermelha para a pigmentação das células mortas (quando penetra em células com a membrana celular prejudicada).

A superfície de cada espécime que ficou exposta ao biofilme e foi analisada e, para isso, tomou-se um cuidado especial de não tocar as mesmas evitando danos.

Para a quantificação de algumas propriedades do biofilme, utilizou-se o programa COMSTAT. Dez amostras de cada grupo foram analisadas, sendo o número de secções ópticas variável com a espessura do biofilme acumulado sobre cada amostras nos diferentes grupos. Em seguida, duas ferramentas do programa COMSTAT foram selecionadas para quantificar as propriedades do biofilme: espessura média ( $\mu\text{m}$ ) e biovolume ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ).

### **4.3 Análise dos dados**

A unidade experimental do presente estudo foi o conjunto dente/cerâmica. O estudo envolveu a análise de 2 fatores: método de remoção do excesso de cimento resinoso em 4 níveis e polimento em 2 níveis (ausência e presença) (Quadro 2).

Considerando a normalidade dos dados de rugosidade, a comparação entre os grupos foi analisada estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA) 2 fatores e as diferenças por teste Tukey e t-student, com significância de 95%.

Considerando a não normalidade dos dados de UFC/mL, biomassa e bioespessura, a comparação entre os grupos foi analisada estatisticamente por teste não paramétrico. Kruskal Wallis e as diferenças por teste Dunn's e teste Mann Whitney com significância de 95%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Rugosidade superficial (Ra)

Os dados de média e desvio padrão de rugosidade superficial nos grupos experimentais estão apresentados na Tabela 1.

Independente da técnica de remoção do cimento, o polimento reduziu significativamente a rugosidade superficial (Tabela 1, linha). Na ausência de polimento, a fotoativação prévia à remoção do cimento reduziu os valores de rugosidade, particularmente quando a lâmina foi utilizada para a remoção do cimento. Nenhuma diferença foi verificada entre as técnicas de remoção de cimento quando o polimento foi realizado (Tabela 1).

Tabela 1 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, grupamentos dos testes de Tukey e resultados dos testes de t-Student para os dados de Ra ( $\mu\text{m}$ ) dos grupos experimentais

Técnica de remoção do cimento	Rugosidade média – Ra ( $\mu\text{m}$ )		P-value***
	Polimento		
	Ausente*	Presente**	
<b>MBr</b>	4,5 $\pm$ 2,2 (2,90-6,16)a	1,8 $\pm$ 0,6 (1,37-2,26)A	0,0019
<b>Pi</b>	4,6 $\pm$ 1,7 (3,38-5,92)a	1,7 $\pm$ 0,7 (1,27-2,31)A	0,0002
<b>Foto-Expl</b>	3,9 $\pm$ 1,2 (3,12-4,86)ab	2,5 $\pm$ 1,3 (1,63-3,56)A	0,0262
<b>Foto-Bi</b>	2,7 $\pm$ 1,0 (2,06-3,50)bc	1,8 $\pm$ 0,4 (1,55-2,21)A	0,0196

Colunas: Teste de Tukey.

\*Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ( $P < 0.05$ ) na ausência de polimento.

\*\*Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ( $P < 0.05$ ) na presença de polimento.

\*\*\* Linha: teste T-student,  $P < 0.05$  indicam médias estatisticamente diferentes.

## 5.2 Unidade Formadora de Colônias (UFC/mL log<sub>10</sub>)

Os dados de média e desvio padrão de UFC/mL log<sub>10</sub> nos grupos experimentais estão apresentados na Tabela 2. Medianas e intervalos interquartis para UFC/mL log<sub>10</sub> estão apresentados na Figura 8.

Na ausência de polimento, diferença estatisticamente significativa foi verificada somente entre os grupos Br e Foto-Bi. Quando polimento foi realizado, remover o cimento com microbrush ou pincel resultou em menor acúmulo de biofilme comparado a técnica de remoção com lâmina. O polimento reduziu significativamente a contagem de UFC/mL para o grupo MBr (MBr vs MBr-Pol), mas não teve influência sobre as demais técnicas de remoção do excesso de cimento (Tabela 2, linha).

Tabela 2 – Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, grupamentos dos testes de Dunn e resultados dos testes de Mann Whitney dos valores de UFC/mL log<sub>10</sub> para os grupos experimentais

Técnica de remoção do cimento	Contagem de UFC (UFC/mL)		
	Polimento		P-value***
	Ausente*	Presente (Pol)**	
<b>MBr</b>	9,35 ± 0,19(9,21-9,49)ab	9,16 ± 0,09(9,09-9,24)A	0,010
<b>Pi</b>	9,21 ± 0,17(9,08-9,34)b	9,25 ± 0,11(9,16-9,33)A	0,424
<b>Foto-Expl</b>	9,33 ± 0,12(9,23-9,42)ab	9,30 ± 0,16(9,18-9,41)AB	0,725
<b>Foto-Bi</b>	9,57 ± 0,37 (9,31-9,84)a	9,46 ± 0,09(9,39-9,53)B	0,896

\* Comparação para os grupos sem polimento usando os testes de Kruskal Wallis e Dunn: letras minúsculas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa.

\*\* Comparação para os grupos com polimento usando os testes de Kruskal Wallis e Dunn: letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa.

\*\*\* Comparação entre as condições de ausência e presença de polimento para cada técnica de remoção do excesso de cimento, utilizando o teste Mann-Whitney: P<0.05 indicam diferença estatística.

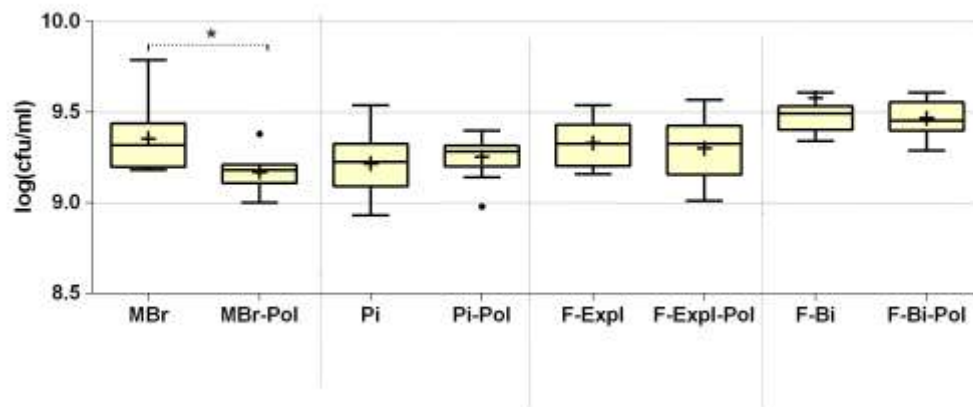


Figura 8 - Box plots de UFC / mL log<sub>10</sub> para os diferentes grupos experimentais. As médias são representados por sinal de mais (+), e a mediana pela linha central. A caixa representa o intervalo interquartis. Grupos com diferença estatística significativa são denotados pelo asterisco (teste de Mann-Whitney).

### 5.3 Biovolume e bioespessura de biofilme

Os dados de media e desvio padrão de biovolume e bioespessura do biofilme nos grupos experimentais estão apresentados na Tabela 3 e 4, respectivamente. Medianas e intervalos interquartis de biovolume e bioespessura estão apresentados nas Figuras 9 e 10, respectivamente.

O biovolume e bioespessura de biofilme não foram influenciados pela técnica de remoção de cimento ( $P = 0,389$ ;  $P = 0,249$ , respectivamente) ou pelo polimento ( $P = 0,950$ ;  $P = 0,723$ , respectivamente).

Tabela 3 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, resultados dos testes de Mann Whitney dos valores de biomassa ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ ) para os grupos experimentais

Técnica de remoção do cimento	Biovolume		P-value***
	Polimento		
	Ausente*	Presente (Pol)**	
MBr	0,027 ± 0,030(0,01-0,52)	0,021 ± 0,035(-0,006-0,048)	p=0,3176
Pi	0,006 ± 0,010(-0,06-,19)	0,023 ± 0,034(-0,005-0,050)	p=0,4103
Foto-Expl	0,047 ± 0,095(-0,05-,14)	0,015 ± 0,027(-0,007-0,037)	p=0,9038
Foto-Bi	0,036 ± 0,063(-0,00-,76)	0,020 ± 0,024(0,001-0,038)	p=0,7859

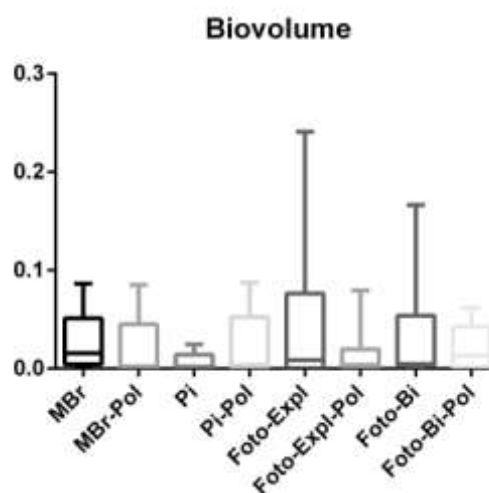


Figura 9 - Gráfico de mediana e intervalo interquartis para os valores de biomassa dos grupos experimentais.

Tabela 4 - Média, desvio-padrão, intervalo de confiança, resultados dos testes de Mann Whitney dos valores de bioespessura ( $\mu\text{m}$ ) para os grupos experimentais

Técnica de remoção do cimento	Bioespessura		P-value***
	Polimento		
	Ausente*	Presente(Pol)**	
MBr	0,060 ± 0,080(0,001-0,120)	0,042 ± 0,074(0,011-0,094)	p=0,2179
Pi	0,003 ± 0,004(0,003-0,008)	0,050 ± 0,093(0,028-0,127)	p=0,6848
Foto-Expl	0,005 ± 0,005(0,000-0,009)	0,052 ± 0,092(0,025-0,128)	p=0,5869
Foto-Bi	0,103 ± 0,166(0,015-0,221)	0,096 ± 0,171(0,035-0,227)	p=0,9047

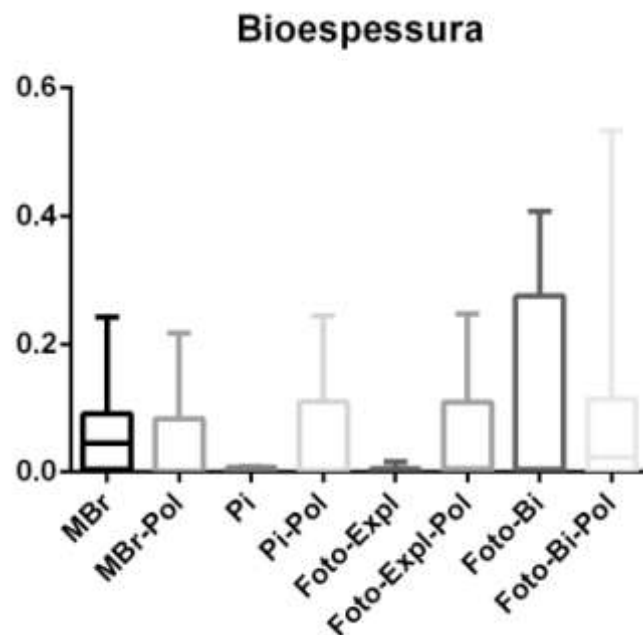


Figura 10 - Gráfico de mediana e intervalo interquartis para os valores de bioespessura para os grupos experimentais.

#### 5.4 Análise micromorfológica

As características superficiais da região da interface dente/cerâmica após as diferentes técnicas de remoção do excesso de cimento estão apresentadas na Figura 11.

O cimento recobriu a superfície do dente e da cerâmica na região marginal em todos grupos. Nas amostras polidas, o remanescente de cimento parece ter aspecto mais liso e menos irregular, principalmente nos grupos MBr-Pol e Pi-Pol (Figura 11c, 11d e Figura 12c, 12d), em comparação com os grupos não polidos MBr e Pi (Figura 11a, 11b e Figura 12c, 12d). Na margem resultante das técnicas Foto-Expl e Foto-Bi, pequenas irregularidades concentradas próximas à linha de término na região marginal foram observadas (Figura 13 e Figura 14).

Na figura ainda podemos observar as ranhuras no esmalte (Figura 14c, 14d).

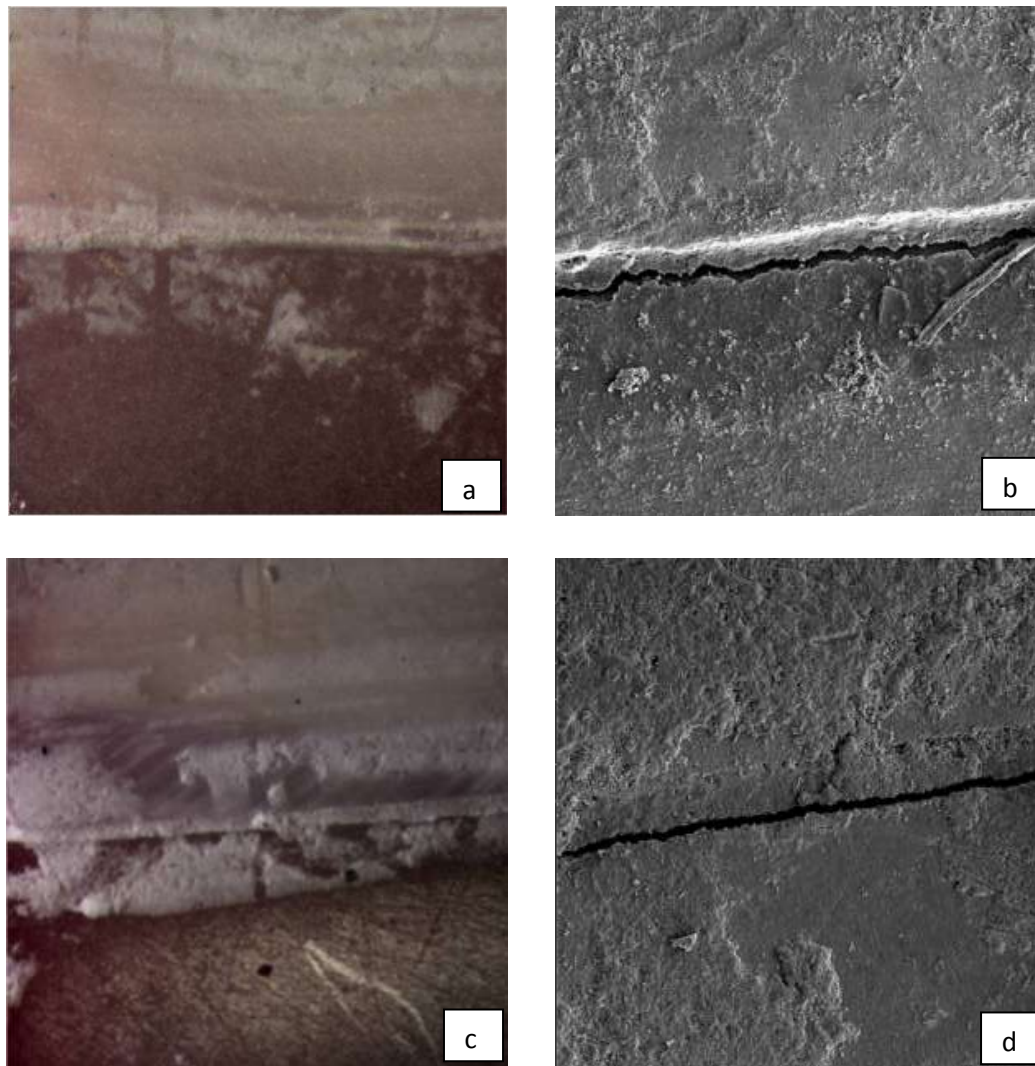


Figura 11 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: MBr (a,b), MBr-Pol (c,d).

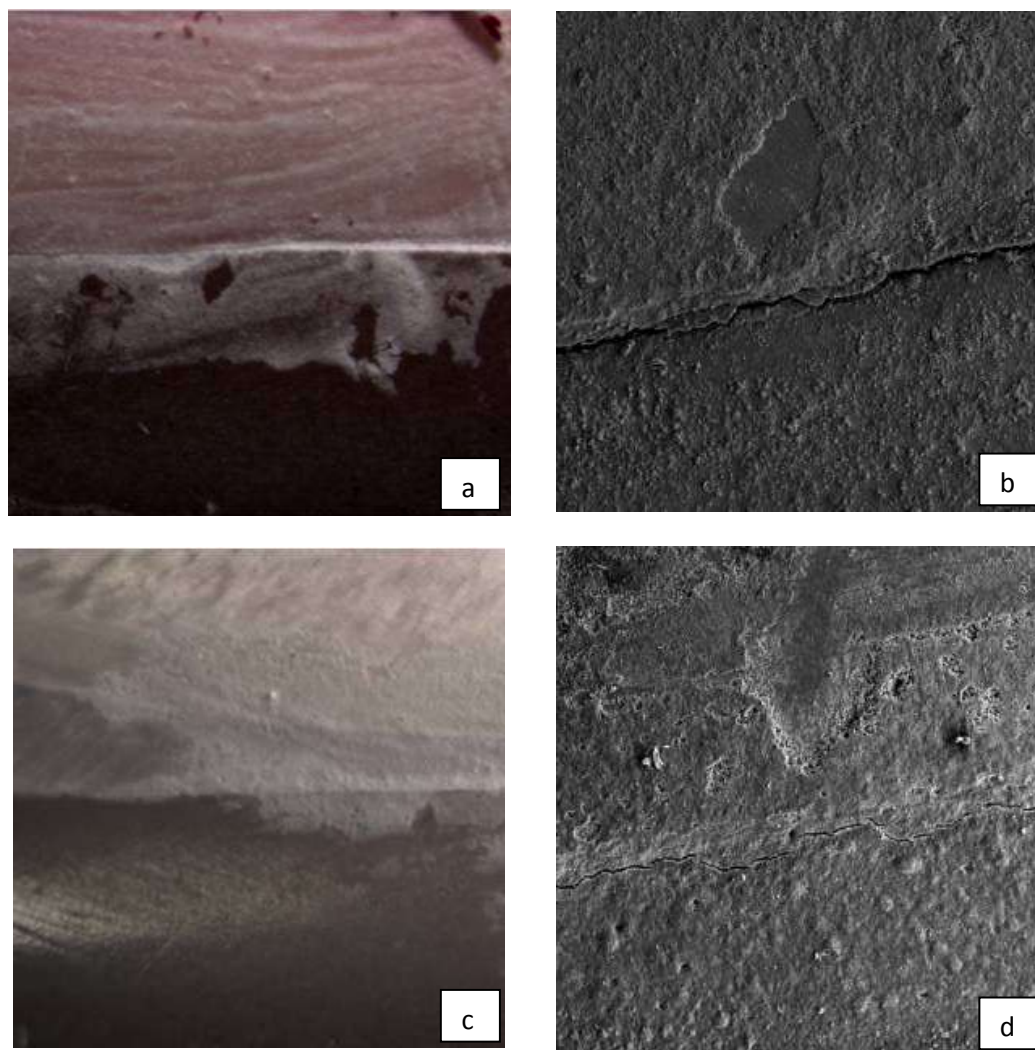


Figura 12 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: Pi (a,b), Pi-Pol (c,d).

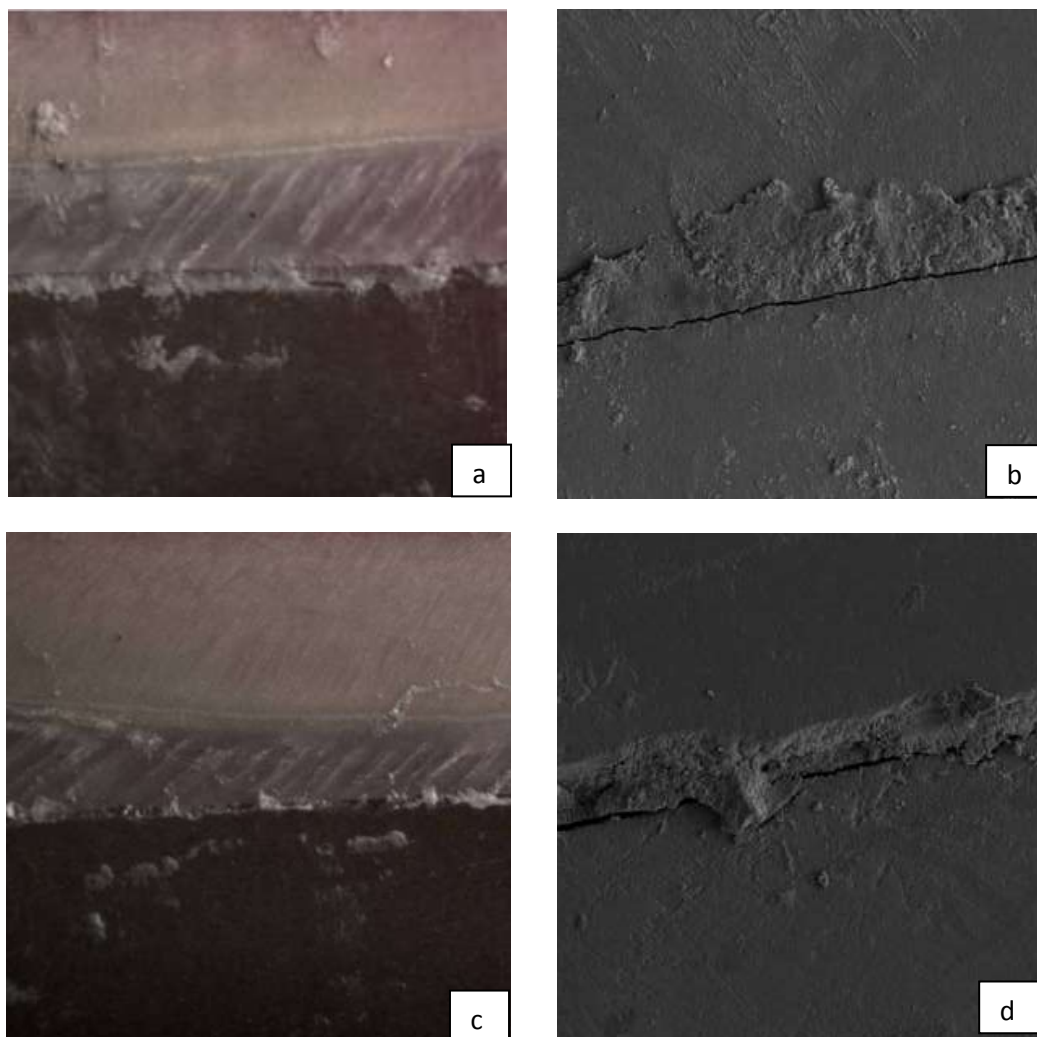


Figura 13 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: Foto-Expl (a,b), Foto-Expl-Pol (c,d).

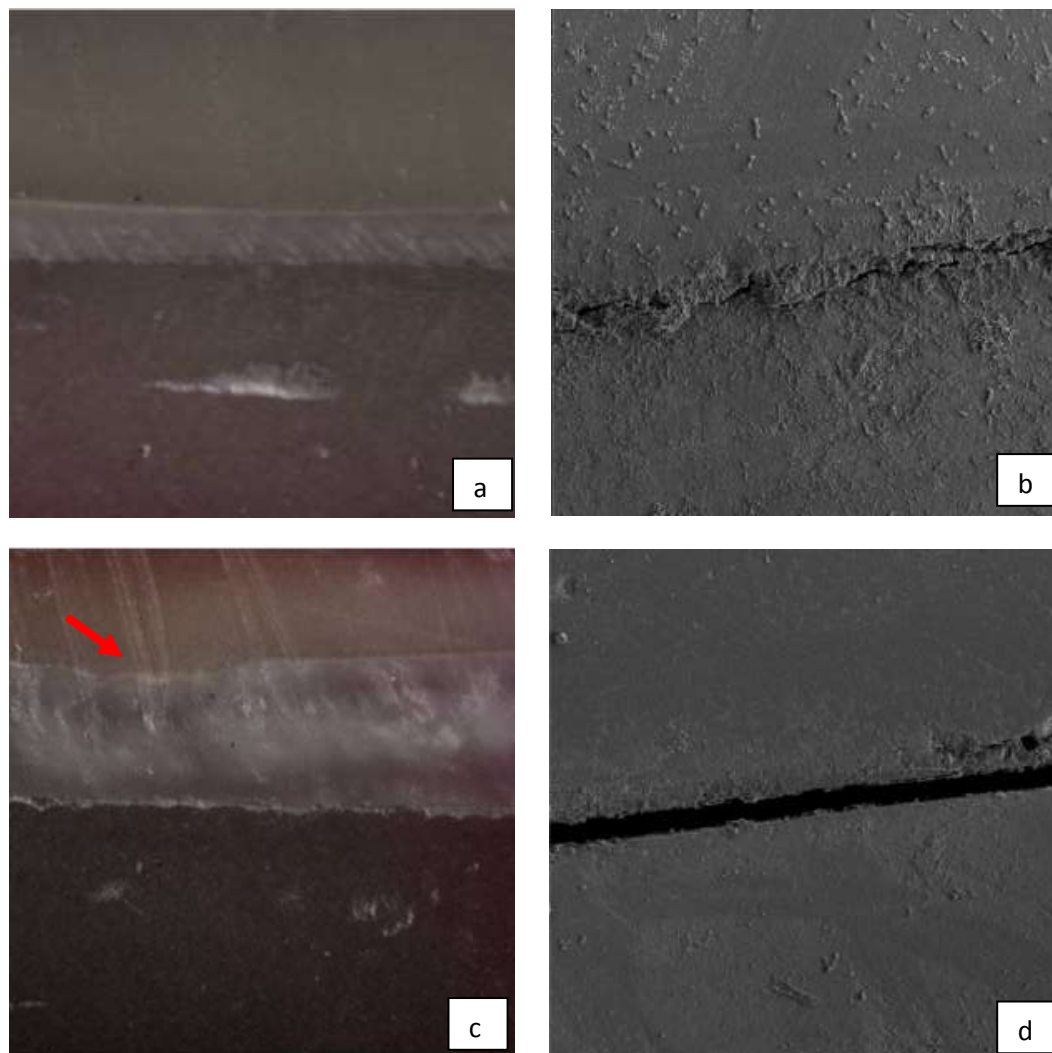


Figura 14 - Imagens: a,c) em estereomicroscópio (20x); b,d) em MEV (500x) da região marginal para os métodos de remoção do excesso de cimento: Foto-Bi (a,b), Foto-Bi-Pol (c,d).

### 5.5 Análise do biofilme em Microscópio Eletrônico de Varredura

A Figura 15 apresenta micrografias representativas do biofilme heterotípico sobre as amostras. A presença de colônias de *S. mutans*, *C. albicans* e *S. aureus*, são observadas.

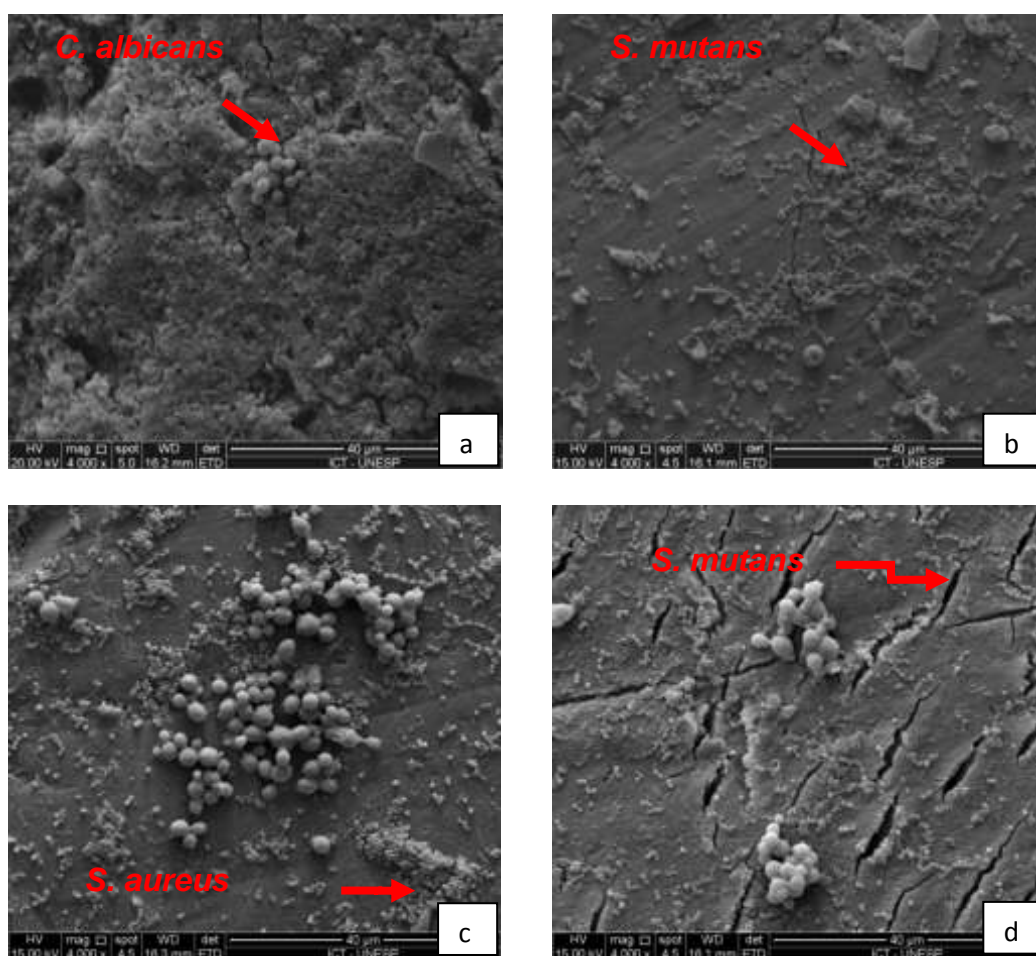


Figura 15 - Micrografias (4000x) representativas do biofilme formado nas amostras dos grupos Pi-Pol(a), Pi-Pol(b), Foto-Expl-Pol(c) e Foto-Bi-Pol(d).

## 5.6 Análise do biofilme em Microscópio Confocal de Varredura a Laser

A Figura 16 apresenta imagens representativas de MCVL do biofilme formado nas amostras. Os três tipos de micro-organismos podem ser observados (*S. mutans*, *S. aureus* e *C. albicans*).

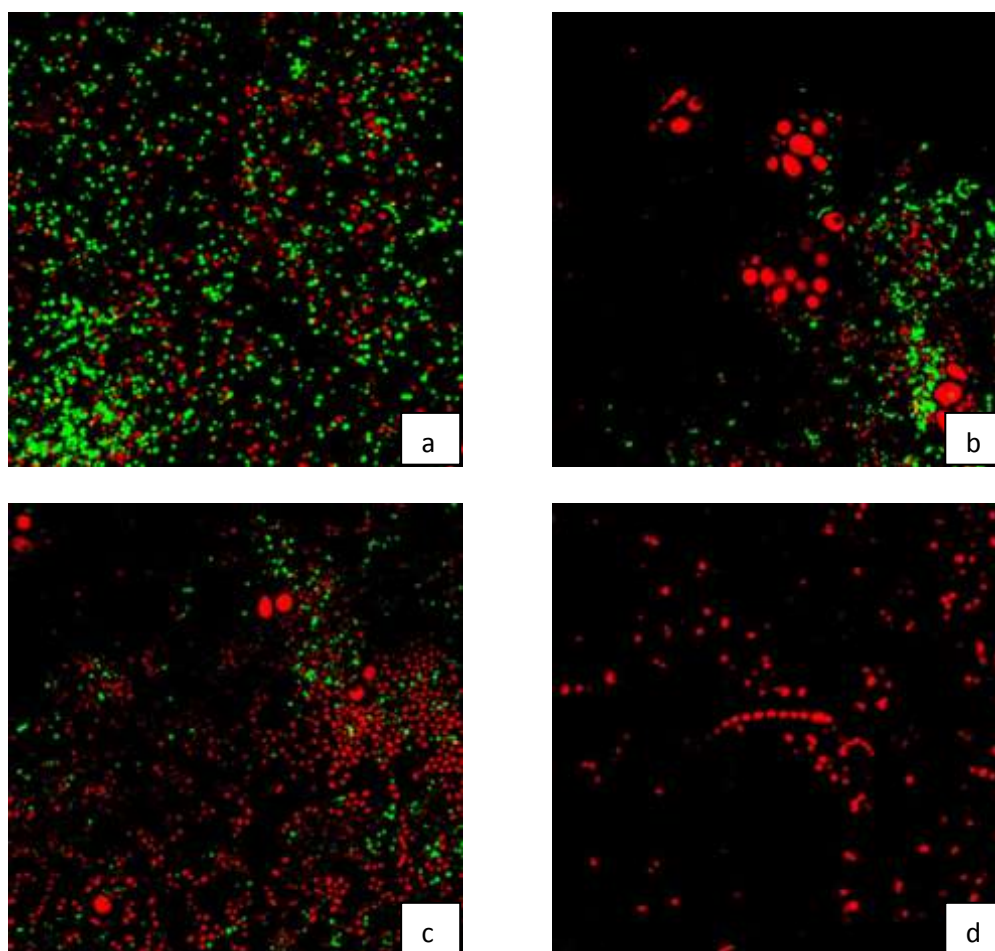


Figura 16 – Micrografias representativas do biofilme formado sobre as amostras dos grupos Br-Pol (a) e Foto-Expl-Pol(b,c,d), onde pode ser observada a presença dos três tipos de micro-organismos.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que polir a região marginal da cerâmica e dente proporciona uma superfície significativamente mais lisa, independente da técnica de remoção do cimento. Assim, mais importante do que a técnica de remoção do cimento, é a execução de polimento de margens pós-cimentação.

Nas análises microbiológicas, o polimento reduziu significativamente a contagem de UFC/mL para o grupo MBr (MBr vs MBr-Pol), mas não teve influência sobre as demais técnicas de remoção do excesso de cimento. Nas análises de bioespessura e biovolume em MCVL nenhuma diferença foi verificada entre os grupos independente da realização do polimento.

Nos experimentos sem polimento, a fotoativação prévia à remoção do cimento reduziu os valores de rugosidade, particularmente quando a lâmina foi utilizada em detrimento ao microbrush ou brush. Esse resultado provavelmente ocorreu porque fotoativação prévia de 5 s, proporcionou a polimerização parcial do cimento e possivelmente facilitou a remoção integral dos excessos com explorador e lâmina, antes da fotoativação final. Essa explicação pode ser embasada observando-se as micrografias em estereomicroscópio (Figuras 13a, 13c e 14a, 14c), onde foi possível observar que a fotoativação prévia associada a remoção do cimento com explorador ou lâmina resultou em uma superfície mais regular do ponto de vista topográfico, em toda região dente/cimento/cerâmica.

Nos experimentos com polimento, as micrografias em estereomicroscópio demonstraram que na técnica de microbrush ou brush, o cimento residual estava presente sobre o dente e a cerâmica. O mesmo não ocorreu quando a fotoativação prévia foi realizada. No entanto, o

polimento posterior proporcionou similar rugosidade entre as técnicas a despeito da presença de cimento residual. Contrapondo os resultados do presente estudo, Anami et al. (2012) demonstraram que o polimento posterior à remoção do cimento aumentou a rugosidade superficial. Os achados divergentes podem ter relação com o tipo de material abrasivo para polimento os quais podem abrasionar demasiadamente a superfície, tornando-a mais rugosa. Nós empregamos pontas de silicone dedicadas para polimento de margens de restauração.

No presente estudo, três metodologias de avaliação do biofilme sobre a região marginal foram utilizadas. Na análise em microscopia confocal laser, na qual bioespessura e biovolume dos biofilmes foram mensurados, nem a técnica de remoção de cimento e nem o polimento apresentaram efeito. Na análise em cultura microbiana, diferenças estatísticas foram verificadas entre as técnicas de remoção de cimento na presença e ausência de polimento. Embora as diferenças tenham sido estatisticamente significantes, suas magnitudes podem ser questionadas quanto a importância clínica e microbiológica. Por exemplo, na ausência de polimento, os grupos Pi (9,21 UFC/mL log<sub>10</sub>) e Foto-Bi (9,57 UFC/mL log<sub>10</sub>) apresentaram diferença estatística significativa entre si. Mas a magnitude dessa diferença foi de apenas 0,36 UFC/ml log<sub>10</sub>.

Outro aspecto importante no presente estudo foi que apesar do polimento ter reduzido de forma significativa os valores de rugosidade, isso não repercutiu em menor adesão microbiana. Isso pode ser explicado pelo fato do tempo de formação do biofilme (48 h) ser muito longo para avaliar o efeito da rugosidade na adesão microbiana; e também porque outros fatores além da rugosidade influenciam na formação do biofilme, como a energia livre superficial do material (Quirynen et al., 1990). A rugosidade superficial reconhecidamente apresenta efeito na adesão inicial dos microrganismos. Irregularidades aumentam a área disponível para a adesão e protegem bactérias dos mecanismos de regulação e controle da microbiota bucal (Quirynen et al.,

1990). Conseqüentemente, o biofilme pode apresentar maturação mais rápida nestas áreas (Quirynen et al., 1990, 1993; Gatewood et al., 1993; Quirynen, Bollen, 1995). Paralelamente, evidências de que os microrganismos permanecem nas irregularidades protegidas da escovação dentária foram apresentadas (Scotti et al., 2007). Assim, considerando muitas vezes o posicionamento subgingival da interface dente-cimento-cerâmica, e que a retenção de microrganismos em irregularidades é maior, obter margens lisas pode ter impacto clínico, favorecendo a longevidade das restaurações. As imagens em MCVL aliadas aos programas Constat e Matlab podem ser úteis em uma análise quantitativa (Brentel et al., 2011, Auschil et al., 2002) do biofilme formado sobre os materiais e fornecer dentre outros aspectos a biomassa e biovolume. Para os valores de biomassa e bioespessura, observamos que as técnicas de remoção do cimento foram semelhantes estatisticamente em ambas condições de polimento (ausência e presença). Ao comparar a influência do polimento em cada técnica, também não observamos diferença significativa. Deve-se ponderar que as imagens MCVL representam análises em áreas pontuais e reduzidas, o que pode caracterizar como uma desvantagem desse método em comparação com a análise de cultura de microrganismos (UFC/mL), o qual oferece achados de adesão de microrganismos em toda superfície do material. Brentel et al. (2011) observaram, utilizando a MCVL, diferenças entre os grupos e, além disso, uma correlação positiva entre a rugosidade e biovolume e entre a rugosidade e espessura do biofilme.

Análises qualitativas em MEV e MCVL tem sido empregadas para avaliação da adesão de microrganismos sobre os materiais (Anami et al., 2012; Azevedo et al., 2012; Pereira et al., 2008; Brentel et al., 2011). Nas imagens representativas de MEV e MCVL do biofilme formado nas amostras, podemos observar a presença dos três micro-organismos (*S mutans*, *S aureus* e *C albicans*), demonstrando um comportamento semelhante de adesão nas diferentes técnicas.

Proporcionar uma superfície polida é importante pelo aspecto estético e de formação do biofilme. Assim, o polimento é fundamental após a remoção do excesso de cimento para o contexto restaurador avaliado. Ensaio clínico poderiam ser conduzidos para avaliar o comportamento clínico das diferentes condições de remoção de cimento e polimento na região marginal, uma vez que isso pode indicar a longevidade das restaurações.

## 7 CONCLUSÃO

- a) O polimento das superfícies marginais tem influência significativa na rugosidade superficial, independente da técnica de remoção do excesso de cimento;
- b) O polimento na técnica do Microbrush reduziu significativamente os valores de UFC/mL, em comparação com a condição sem polimento, muito embora não tenha sido relevante para as demais técnicas;
- c) As técnicas de remoção do excesso de cimento influenciam os valores de adesão bacteriana.

## 8 REFERÊNCIAS\*

Agar JR, Cameron SM, Hughbanks JC, Parker MH. Cement removal from restorations luted to titanium abutments with simulated subgingival margins. *J Prosthet Dent.* 1997;78(1):43-7.

Akar GC, Pekkan G, Çal E, Eskitaşçıoğlu G, Özcan M. Effects of surface-finishing protocols on the roughness, color change, and translucency of different ceramic systems. *J Prosthet Dent.* 2014;112(2):314-21.

Akgüngör G, Aydın M, Sen D, Issever H. Clinical efficacy of the Vector system in excess cement removal during fixed prosthodontic treatment. *Quintessence Int.* 2008;39(4):139-46.

Al-Ahmad A, Follo M, Selzer AC, Hellwig E, Hannig M, Hannig C. Bacterial colonization of enamel in situ investigated using fluorescence in situ hybridization. *J Med Microbiol.* 2009;58:1359–66.

Al-Marzok MI, Al-Azzawi HJ. The effect of the surface roughness of porcelain on the adhesion of oral *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract.* 2009;10(6):17-24.

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

---

\* 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)

Anami LC, Pereira CA, Guerra E, Souza ROA, Jorge AO, Bottino MA. Morphology and bacterial colonization of tooth/ceramic restoration interface after different cement excess removal techniques. *J Dent.* 2012;40(9):742-9.

Aravind P, Razak PA, Francis PG, Issac JK, Shanoj RP, Sasikumar TP. Comparative evaluation of the efficiency of four ceramic finishing systems. *J Int Oral Health.* 2013;5(5):59-64.

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.

Aykent F, Yondem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S. Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. *J Prosthet Dent.* 2010;103(4):221-7.

Azevedo SM, Kantorski KZ, Valandro LF, Bottino MA, Pavanelli CA. Effect of brushing with conventional versus whitening dentifrices on surface roughness and biofilm formation of dental ceramics. *Gen Dent.* 2012;60(3):123-30.

Bottino MC, Valandro LF, Kantorski KZ, Bressiani JC, Bottino MA. Polishing methods of an alumina-reinforced feldspar ceramic. *Braz Dent J.* 2006;17(4):285-9.

Bremer F, Grade S, Kohorst P, Stiesch M. In vivo biofilm formation on different dental ceramics. *Quintessence Int.* 2011;42(7):565-74.

Brentel AS, Kantorski KZ, Valandro LF, Fucio SB, Puppini-Rontani RM, Bottino MA. Confocal laser microscopic analysis of biofilm on newer feldspar ceramic. *Oper Dent.* 2011;36(1):43-51.

Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials*. 2001;22(5):481-7.

Christensen RP, Ploeger BJ. A clinical comparison of zirconia, metal and alumina fixed-prosthesis frameworks veneered with layered or pressed ceramic: a three-year report. *J Am Dent Assoc*. 2010;141(11):1317-29.

Frojd V, Chavez de Paz L, Andersson M, Wennerberg A, Davies JR, Svensater G. In situ analysis of multispecies biofilm formation on customized titanium surfaces. *Mol Oral Microbiol*. 2011;26(4):241-52.

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.

Gybbons RJ, 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.

Hahnel S, Mühlbauer G, Hoffmann J, Ionescu A, Bürgers R, Rosentritt M, et al. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* biofilm formation and metabolic activity on dental materials. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(2):114-21.

Hickel R, Roulet JF, Bayne S, Heintze SD, Mjor IA, Peters M, et al. Recommendations for conducting controlled clinical studies of dental restorative materials. Science Committee Project 2/98--FDI World Dental Federation study design (Part I) and criteria for evaluation (Part II) of direct and indirect restorations including onlays and partial crowns. *J Adhes Dent*. 2007;9(1):121-47.

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

Kantorski KZ, Scotti R, Valandro LF, Bottino MA, Koga-Ito CY, Jorge AO. Adherence of *Streptococcus mutans* to uncoated and saliva-coated glass-ceramics and composites. *Gen Dent*. 2008;56(7):740-7.

Kantorski KZ, Scotti R, Valandro LF, Bottino MA, Koga-Ito CY, Jorge AO. Surface roughness and bacterial adherence to resin composites and ceramics. *Oral Health Prev Dent*. 2009;7(1):29-32.

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):664-7.

Konishi N, Torii Y, Kurosaki A, Takatsuka T, Itota T, Yoshiyama M. Confocal laser scanning microscopic analysis of early plaque formed on resin composite and human enamel. *J Oral Rehabil*. 2003;30(8):790-5.

Korsch M, Marten SM, Dötsch A, Jáuregui R, Pieper DH, Obst U. Effect of dental cements on peri-implant microbial community: comparison of the microbial communities inhabiting the peri-implant tissue when using different luting cements. *Clin Oral Implants Res*. 2015a; Mar 21:1-6.[Epub ahead of print]

Korsch M, Obst U, Walther W. Cement-associated peri-implantitis: a retrospective clinical observational study of fixed implant-supported restorations using a methacrylate cement *Clin Oral Implants Res*. 2014a; 25(7):797-802.

Korsch M, Robra BP, Walther W. Cement-associated signs of inflammation: retrospective analysis of the effect of excess cement on peri-implant tissue. *Int J Prosthodont*. 2015b; 28(1):11-8.

Korsch M, Robra BP, Walther W. Predictors of excess cement and tissue response to fixed implant-supported dentures after cementation. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015c;17(1):45-53.

Korsch M, Walther W. Peri-Implantitis associated with type of Cement: a retrospective analysis of different types of cement and their clinical correlation to the peri-implant tissue. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014 Sep 2. doi:10.1111/cid.12265 [Epub ahead of print]

Korsch M, Walther W, Marten SM, Obst U. Microbial analysis of biofilms on cement surfaces: An investigation in cement-associated peri-implantitis. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2014b;12:70-80.

Kou W, Moulin M, Sjögren G. Surface roughness of five different dental ceramic core materials after grinding and polishing. *J Oral Rehabil*. 2006;33(2):117-24.

Lange RT, Pfeiffer P. Clinical evaluation of ceramic inlays compared to composite restorations. *Oper Dent*. 2009;34(3):263-72.

Liebenberg WH. Interproximal integrity of posterior partial-coverage ceramic restorations: sequence of delivery and finishing. *Quintessence Int*. 1999;30(12):807-18.

Lima FG, Romano AR, Correa MB, Demarco FF. Influence of microleakage, surface roughness and biofilm control on secondary caries formation around composite resin restorations: an in situ evaluation. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(1):61-5.

Mansour YF, Pintado MR, Mitchell CA. Optimizing resin cement removal around esthetic crown margins. *Acta Odontol Scand.* 2006;64(4):231-6.

Mitchell CA, Pintado MR, Geary L, Douglas WH. Retention of adhesive cement on the tooth surface after crown cementation. *J Prosthet Dent.* 1999;81(6):668-77.

Mutluay MM, Zhang K, Ryou H, Yahyazadehfar M, Majd H, Xu HH et al. On the fatigue behavior of resin-dentin bonds after degradation by biofilm. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2013;18:219-31.

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. *Archives of oral biology.* 1998;43(4):277-85.

Pereira SM, Kantorski KZ, Brentel AS, Valandro LF, Bottino MA. SEM analysis of the in situ early bacterial colonization on two novel feldspathic ceramics submitted to different types of glazing. *J Contemp Dent Pract.* 2008;9(2):49-56.

Pereira SM, Kantorski KZ, Valandro LF, Bottino MA, Pavanelli CA. Effect of brushing with conventional versus whitening dentifrices on dental ceramics. *Gen Dent.* 2012;60(3):123-30.

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

Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface

roughness on early plaque formation: an in vivo study in man. *J Clin Periodontol.* 1990;17(3):138-44.

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

Rimondini L, Fare S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F, et al. The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. *J Periodontol.* 1997;68(6):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.

Schmidlin PR, Siebenmann J, Kocher P, Seemann R, Attin T, Bindl A. Effects of de- and remineralization of dentin on bond strengths yielded by one-, three-, and four-step adhesives. *J Adhes Dent.* 2008;10(2):119-26.

Scotti R, Zanini Kantorski K, Scotti N, Monaco C, Valandro LF, Bottino MA. Early biofilm colonization on polished- and glazed-zirconium ceramic surface. Preliminary results. *Minerva Stomatol.* 2006; 55(9):493-502.

Scotti R, Kantorski KZ, Monaco C, Valandro LF, Ciocca L, Bottino MA. SEM evaluation of in situ early bacterial colonization on a Y-TZP ceramic: a pilot study. *Int J Prosthodont.* 2007;20(4):419-22.

Sethi S, Kakade D, Jambhekar S, Jain V. An in vitro investigation to compare the surface roughness of auto glazed, reglazed and chair side polished surfaces of Ivoclar and Vita feldspathic porcelain. *J Indian Prosthodont Soc.* 2013;13(4):478-85.

Silva EM, Almeida GS, Poskus LT, Guimaraes JG. Influence of organic acids present in the oral biofilm on the microtensile bond strength of adhesive systems to human dentin. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012;100(3):735-41.

Tanner J, Robinson C, Soderling E, Vallittu P. Early plaque formation on fibre-reinforced composites in vivo. *Clin Oral Investig.* 2005;9(3):154-60.

Vieira AC, Oliveira MC, Lima EM, Rambob I, Leite M. Evaluation of the surface roughness in dental ceramics submitted to different finishing and polishing methods. *J Indian Prosthodont Soc.* 2013;13(3):290-5.

Wilson TG Jr. The positive relationship between excess cement and peri-implant disease: a prospective clinical endoscopic study. *J Periodontol.* 2009;80(9):1388-92.

Yamane KI, Ayukawa Y, Takeshita T, Furuhashi A, Yamashita Y, Koyano K. Bacterial adhesion affinities of various implant abutment materials. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(12):1310-5.

Zhang K, Cheng L, Imazato S, Antonucci JM, Lin NJ, Lin-Gibson S, et al. Effects of dual antibacterial agents MDPB and nano-silver in primer on microcosm biofilm, cytotoxicity and dentine bond properties. *J Dent.* 2013;41(5):464-74.