

**Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
FOA/UNESP, São Paulo, Brasil  
Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese  
Departamento de Odontologia Infantil e Social**

**CECÍLIA ALVES DE SOUSA**

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA ADESÃO MICROBIANA EM DIFERENTES  
RUGOSIDADES DE SUPERFÍCIE DE RESINA ACRÍLICA ESPECÍFICA PARA  
PRÓTESE OCULAR**

ARAÇATUBA – SP

2015

**CECÍLIA ALVES DE SOUSA**

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA ADESÃO MICROBIANA EM DIFERENTES  
RUGOSIDADES DE SUPERFÍCIE DE RESINA ACRÍLICA ESPECÍFICA PARA  
PRÓTESE OCULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de Bacharel em  
Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba,  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Titular Marcelo Coelho Goiato

Co-orientadora: Profa. Ass. Dra. Cristiane Duque

ARAÇATUBA – SP

2015

# *Dedicatória*

*Aos* **pacientes** vítimas de perda do globo ocular,  
por serem a razão deste estudo.

e

*Aos* **meus pais, Jarbas e Maria Célia,**  
por terem feito do meu sonho o deles e pelo apoio incondicional.

# *Agradecimentos*

A **Deus**, por ter colocado em minha vida pessoas especiais que foram imprescindíveis para o meu crescimento.

Aos meus pais, **Jarbas de Sousa Silva e Maria Célia de Oliveira**, por não terem medido esforços para que meus objetivos e sonhos fossem alcançados e por serem o meu maior referencial de amor e fé incondicionais. Vocês foram a rocha que Deus colocou em minha vida para que eu buscasse forças quando minhas fraquezas foram maiores que minha vontade de vencer e tenho a certeza de que serão sempre meu refúgio. Obrigado por serem tão presentes e imprescindíveis em minha vida.

Aos meus irmãos, **Philippe Alves de Oliveira e Silva, Leticia Alves de Sousa e Arthur Alves de Oliveira Silva**, por fazerem das minhas idas pra casa serem sempre acolhedoras e mais divertidas. Agradeço ao companheirismo e pelo jeitinho com que cada um de vocês sentiram a minha falta nestes 5 anos. Me desculpem pelas ausências em momentos importantes e saibam que sempre estarei ao lado de vocês independente de qualquer distância que nos separe.

Aos meus avós **Elza Ferreira de Sousa Silva (in memorian), João George da Silva e Ana Alves de Oliveira** pelo conhecimento que, de forma tão humilde, me passaram e por me mostrarem involuntariamente que a simplicidade, o trabalho duro e o carinho com o próximo são valores que nenhuma faculdade jamais me ensinará.

Ao meu amado namorado, **Gustavo Antônio Correa Momesso**, por ser meu melhor amigo, companheiro e conselheiro de todas as minhas decisões. Obrigado por estar do meu lado em todos os momentos, pela ajuda e apoio durante o desenvolvimento deste projeto e por nunca me desamparar. Sem você e seu carinho ao meu lado, essa caminhada teria sido mais árdua.

Ao meu querido orientador, **Prof. Dr. Marcelo Coelho Goiato**, a quem devo gratidão por acreditar em mim e pela oportunidade de poder ingressar no meio científico. Tenho profunda admiração pelo profissional que é e, principalmente, pelo seu trabalho com uma linha de pesquisa tão ímpar e bonita como a Prótese Bucomaxilo-Facial, a qual tenho tamanho respeito. O aprendizado que adquiri neste projeto transpassou as barreiras científicas e levarei seu exemplo para o resto de minha jornada profissional.

À **Profa. Dra. Daniela Michelline dos Santos** pela orientação e todo apoio que me proporcionou durante a execução deste projeto. Obrigada pelo tempo que dedicou a nos ajudar, sempre tão presente, disposta e amiga. Não houve momentos em que não se tinha tempo para sanar uma dúvida ou amenizar uma situação de dificuldade. Agradeço por todo o esforço para que eu me ingressasse no meio científico e por ter sido um referencial de profissionalismo durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Serei sempre grata pela atenção que me deu durante estes anos e por ter sido tão essencial em minha iniciação científica.

À **Profa. Dra. Cristiane Duque** pela co-orientação e por ter me dado a oportunidade de trabalhar ao seu lado no laboratório de microbiologia do Departamento de Odontologia Infantil e Social. Sua dedicação com a pesquisa é algo contagiante e sua atenção com o meu trabalho foi algo sem igual durante todo o tempo em que trabalhamos em conjunto. Obrigado por ter se dedicado para que ele fosse concluído com excelência e por ter aberto as portas do laboratório para o nosso uso. Tenho a senhora como um grande exemplo de cirurgiã-dentista, conciliando seu tempo como professora, orientadora, mãe, pesquisadora e sempre tão dedicada à família e seus alunos. Espero poder um dia, ter um pouco da competência que pude observar na senhora durante o projeto.

À **Profa. Dra. Amália Moreno** por ter iniciado este projeto e pela oportunidade de ter me incluído nesta pesquisa. Sou muito grata pela dedicação que você teve para que eu recebesse minha bolsa de iniciação científica e por ter perseverado para a conclusão deste projeto.

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP** na pessoa de **Prof. Dr. Wilson Roberto Poi**, por me proporcionar toda a estrutura necessária para que pudesse desenvolver meus projetos profissionais e, por fim, me graduar em odontologia.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo auxílio financeiro concedido através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), para que se concretizasse a realização deste projeto.

Aos Pós-Graduandos do Departamento de Prótese e Materiais Odontológicos, **Adhara Smith Nobrega, Rodrigo Medeiros, Mariana Vilela, Emily Silva, Liliane Bonatto** pela paciência que sempre tiraram em ensinar e ajudar em todas as vezes que precisei, a escolha de cada um de vocês pela pós graduação foi certa e espero que alcancem o sucesso que merecem.

*Em especial,*

À **Agda Marobo Andreotti** a quem devo eterna gratidão, pois foi imprescindível para a execução deste projeto. Obrigado por toda a atenção que você direcionou a mim durante todos estes anos. Aprendi e aprendo sempre com você. Obrigada pela paciência, profissionalismo, orientação e acima de tudo, pela amizade. Saiba que o seu caminho e escolha pela pós-graduação foi certa e que este dom que lhe foi concedido será ainda muito bem reconhecido. Mantenha seu foco no que sempre acreditou e saiba que o seu propósito de futura professora, pesquisadora e orientadora já plantou frutos em mim e por isso, tenho a certeza de que ainda levará estes mesmos frutos a muitos outros alunos. Nunca perca a alegria com seu trabalho e essa dedicação incansável que tanto me inspiro, você é uma pessoa iluminada e encantadora

que jamais terá o brilho apagado. Não tenho palavras para agradecer e dizer o quanto você foi essencial no meu crescimento e amadurecimento pessoal e acadêmico, apenas espero poder algum dia, retribuir toda a atenção e carinho dedicados a mim. Saiba que sempre estarei à sua disposição para dividir choros, conversas, amostras, bactérias, dividir o mesmo teto, mas principalmente, dividir alegrias. Tenho certeza do seu sucesso profissional e espero poder estar por perto para ver isto se concretizar.

Aos colegas de iniciação científica **Bruna Egummi, Betina Commar, Denise Carneiro, Henrique Rinaldi, Marcela Borghi, Murilo César e Dênis Watannabe** pela cumplicidade, amizade e pelas informações trocadas sempre que precisamos. Vocês fazem parte do meu crescimento e podem contar sempre com a minha ajuda.

Aos demais professores, funcionários e técnicos de laboratório do departamento de prótese e materiais odontológicos pela troca de informações e aprendizado constante que tive durante todo minha iniciação científica e graduação. Em especial ao **Prof. Dr. Aldierés Alves Pesqueira** pela alegria, animação contagiante e pelo carinho que sempre teve comigo, **Profa. Dra. Adriana Cristina Zavanelli** pelas oportunidades e conhecimento que me foi passado em meu treinamento técnico em prótese parcial fixa e a secretária **Magda** por ser sempre tão solícita e disposta a ajudar.

Aos **Funcionários, Professores e Pós-Graduandos** do departamento odontologia infantil e social pelo suporte, convivência e por estarem sempre à disposição a ajudar ou sanando dúvidas durante o desenvolvimento do trabalho no laboratório de microbiologia.

*Em especial,*

À **Juliana Machado** por ter sido essencial na execução da parte microbiológica deste projeto e pela harmoniosa convivência, sempre demonstrando vontade em ajudar desde o momento em que cheguei ao laboratório. Obrigado por toda a dedicação, paciência e calma que

você teve comigo. Espero um dia ter tanta humildade, tranquilidade e conhecimento quanto você e muito obrigada por ter abdicado tanto do seu tempo para que este trabalho obtivesse sucesso. Estarei sempre em débito com você por tanto comprometimento.

Aos professores da UNESP - Campus de Sorocaba **Elidiane Cipriano Rangel** e **Nilson Cristino da Cruz** pela disponibilidade em nos auxiliar durante o período de testes de rugosidade, abrindo as portas do Laboratório Multiusuário de Caracterização de Materiais – LMCMat da UNESP – Campus de Sorocaba e sendo tão solícitos. E aos técnicos da UNESP – Campus de Ilha Solteira por terem sido solícitos durante o teste de Microscopia de Força Atômica.

Aos **pacientes** que atendi durante toda a minha graduação. Obrigada por confiarem em minha inexperiência e por acreditarem em minha capacidade de exercer minha futura profissão. Cada sorriso agradecido, cada gesto de respeito e consideração pelo atendimento estará registrado pra sempre em minha memória. Todas as lições de vida que tive, histórias compartilhadas e o contato estabelecido, elevaram minha experiência clínica à níveis inesperados por mim e espero que minha qualificação na área odontológica esteja em eterno aperfeiçoamento a fim de humanizar e melhorar meu atendimento à vocês.

Aos **companheiros e alunos do cursinho DACA-UNESP**. Agradeço pela oportunidade de retribuir a quem precisa todo o investimento depositado em minha graduação. E nada melhor do que retribuir em forma de educação, tentando melhorar a qualidade de vida de alunos que batalham com tanto esforço e dedicação se espelhando em nós, outros alunos, para atingirem seus objetivos. E aos demais colegas que estão neste projeto, por me mostrarem que existem outras pessoas que acreditam neste mesmo propósito de incentivar o ensino e aperfeiçoar a educação para alunos de baixa renda sem medir esforços para que isso aconteça. Este é um



projeto que levarei comigo com grande carinho e admiração para minha carreira profissional e vida pessoal.

À família que pude escolher em Araçatuba, **Fred Lucas, Érica Araújo, Camila Ambrósio, Denise Rós, Carla Occhiena, Janaína Dias, Emilie Vicentin, Matheus Brasilino, Milena Nascimento**, obrigada por terem feito dos meus dias de faculdade mais felizes, suaves e por suprirem um pouco da saudade de casa. Sem vocês estes cinco anos não seriam a mesma coisa.

À **todas** as pessoas que convivi durante os quatro anos morando em pensionato. Em quatro anos, convivi com pessoas de todas as regiões, diferentes religiões, manias e temperamentos e durante todo este tempo, aprendi a respeitar mais o próximo, a conviver com as diferenças e, principalmente, aprendi a ver o lado bom que existe em cada pessoa mesmo em difíceis situações. Sou grata a todas essas situações que me fizeram crescer e me tornar uma pessoa mais tolerante e paciente com as pessoas do meu convívio.

A **todos** que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste projeto, meu muito obrigado!

# *Epígrafe*

*“No dia que a universidade me deu um diploma e uma ciência que estava longe de carregar no cérebro. Confesso que me senti ao mesmo tempo enganado e orgulhoso.”*

Memórias Póstumas de Brás Cubas –

Machado de Assis

SOUSA, CA. **Avaliação *in vitro* da adesão microbiana em diferentes rugosidades de superfície de resina acrílica específica para prótese ocular**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2003.

### Resumo

O propósito deste estudo foi analisar a rugosidade de superfície de resina acrílica para prótese ocular submetida a polimento com lixas de diferentes granulações e avaliar a interferência dos diferentes níveis de polimento na adesão e formação de biofilme de diferentes microrganismos (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *C. albicans* e *E. faecalis*), nas superfícies da resina acrílica para prótese ocular. Para isso, foram confeccionados 432 corpos de prova distribuídos em 6 grupos de acordo com o polimento (Grupo 1: granulação 1200 + solução sílica, Grupo 2: granulação 1200, Grupo 3: granulação 800, Grupo 4: granulação 400, Grupo 5: granulação 120 e Grupo 6: sem polimento). A rugosidade foi avaliada por meio de um perfilômetro e Microscopia de Força Atômica. O crescimento microbiano nas superfícies dos corpos de prova foi analisado nos períodos de 4, 24 e 48 horas de incubação. Os dados obtidos foram então submetidos à análise estatística. Os resultados demonstraram que os grupos que apresentaram maiores valores médios de rugosidade foram 120 e 400. Para *S. epidermidis*, todos os grupos diferiram do controle nos tempos 4 e 48h. O grupo 1200S diferiu do controle negativo (meio de cultura BHI puro) em todos os tempos e teve os menores valores de crescimento bacteriano, após 24 e 48h de crescimento. Para *S. aureus*, somente o grupo 1200S apresentou os menores valores de crescimento bacteriano, com diferença significativa em relação ao controle negativo. Para *E. faecalis*, todos os grupos diferiram do controle, mas não entre si, exceto 400. *C. albicans* não aderiu às superfícies da resina acrílica. Conclui-se que as diferentes rugosidades não interferiram estatisticamente na adesão e crescimento microbiano nas superfícies dos corpos de prova, exceto o grupo 1200S em relação às espécies de bactérias.

SOUSA, CA. **In vitro evaluation of microbial adhesion on different surface roughness of acrylic resin specific for ocular prosthesis.** 2015. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2003.

## Abstract

The aim of this study was to analyze the acrylic resin surface roughness for ocular prosthesis subjected to polishing with different granulation sandpapers and evaluate the effect of different polishing levels in adhesion and biofilm formation of different microorganisms (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis* and *C. albicans*), on the surfaces of the acrylic resin for ocular prostheses. For this, a total of 432 samples of acrylic resin was divided into 6 groups according to the polishing (Group 1: granulating 1200 + silica solution, Group 2: Granulation 1200, Group 3: Granulation 800, Group 4: granulation 400, Group 5: granulation 120 and Group 6: unpolished). The surface roughness was measured by a profilometer and Atomic Force Microscopy. The microbial growth on samples surfaces were analyzed after 4, 24 and 48 hours of incubation. Data were submitted to statistical analysis. The results showed that the groups with higher mean values of roughness were 120 and 400. To *S. epidermidis*, all groups differed from the control after 4 and 48 hours. The 1200S group differed from the negative control at all periods and presented the lowest values of bacterial growth after 24 and 48 h of growth. For *S. aureus*, only the 1200S group showed the lowest values of bacterial growth, with a significant difference from the negative control. For *E. faecalis*, all groups differed from negative control but not with each other, except 400. *C. albicans* did not adhere to the surfaces of acrylic resin. It is concluded that the different surface roughness did not statistically interfere with adhesion and microbial growth on the samples surfaces, except the 1200S group for the bacteria species.

# *Sumário*

<b>Introdução</b> -----	13
<b>Objetivo</b> -----	16
<b>Hipótese</b> -----	17
<b>Materiais e método</b> -----	18
<b>Análise estatística</b> -----	22
<b>Resultados</b> -----	23
<b>Discussão</b> -----	28
<b>Conclusão</b> -----	33
<b>Referências</b> -----	34

# *Introdução*

A prótese ocular é considerada um importante tratamento para pacientes que foram submetidos à perda total ou parcial do globo ocular devido a trauma, neoplasias ou deformações congênitas<sup>1; 2; 3</sup>. Embora a visão não possa ser reconstituída por meios artificiais, a prótese tem como principal objetivo reconstruir a estética da face, além de estimular adequadamente o crescimento dos tecidos, promover a sustentação da tonicidade muscular da pálpebra superior, dirigir o lacrimejamento ao seu ducto fisiológico, impedir o colapso palpebral e o acúmulo de fluidos na cavidade anoftálmica<sup>4; 5</sup>. Com isso, o uso da prótese ocular reflete na reintegração do indivíduo à sociedade, contribuindo com seu desenvolvimento psíquico social e proporcionando melhoria em sua qualidade de vida<sup>6; 7; 8</sup>.

As resinas acrílicas são atualmente o material de escolha para a reabilitação ocular por apresentar características singulares como baixo custo, boa adaptação e biocompatibilidade, fácil manipulação e estética satisfatória<sup>9; 10; 11</sup>. A resina acrílica para esclera artificial é pigmentada com pigmentos brancos, para assemelhar-se à coloração da esclera natural e uma resina acrílica incolor é utilizada para cobertura da caracterização de vasos sanguíneos e íris artificial<sup>9; 11; 12; 13</sup>.

Embora a prótese ocular encontre-se adequadamente adaptada na cavidade anoftálmica, na maioria dos casos pode-se observar certo grau de “espaço morto”, entre a superfície posterior da mesma e o fundo da cavidade. A secreção lacrimal, muco e resíduos estagnados nesse espaço constituem excelente meio de cultura para o crescimento bacteriano. Este acúmulo de secreção na cavidade anoftálmica, além de gerar grande insatisfação estética para o paciente, também pode causar desconforto e inflamação, além de interferir na mobilidade da prótese e ocasionar a perda do brilho de sua superfície<sup>14</sup>.

A adesão bacteriana a polímeros e a produção de biofilme depende de propriedades físico-químicas da superfície do material e da superfície bacteriana. A adesão e retenção bacteriana inicial são possíveis, pois as bactérias e a superfície se interagem a certa distância, através da combinação de forças atrativas e forças repulsivas eletrostáticas<sup>15</sup>.

Os estafilococos são considerados os mais importantes patógenos de infecções protéticas<sup>16</sup>. *Staphylococcus epidermidis* tem habilidade de se aderir e proliferar em superfícies de polímeros, especialmente lentes e próteses intra-oculares, secretando matriz extracelular viscosa (biofilme) que o protege contra antibióticos, bem como dos mecanismos de defesa do hospedeiro<sup>17; 18</sup>. *Staphylococcus aureus* vive principalmente nas superfícies das mucosas e tem sido considerado um dos mais versáteis e perigosos patógenos humanos<sup>19</sup>. *Enterococcus faecalis* é um estreptococo gram positivo natural do trato intestinal, e encontrado no solo, esgoto, água, e alimentos, frequentemente através de contaminação fecal. Apesar de raramente colonizar estruturas oculares e tecidos adjacentes, a infecção por esse microrganismo pode acontecer por meio de material contaminado ou por sementeira endógena<sup>20</sup>. Algumas infecções oculares podem estar relacionadas com o *E. faecalis*, como endoftalmite<sup>20</sup> e úlcera de córnea<sup>20; 21</sup>. Além disso, *Candida albicans* também tem efetiva ocorrência dentre as infecções fúngicas de próteses bucomaxilofaciais<sup>22</sup>. A disseminação hematogênica de *C. albicans* ao olho, está associada ao abuso de drogas intravenosas, debilitação grave ou imunodepressão, cirurgias recentes (especialmente gastrointestinais), uso de antibióticos de amplo espectro, diabetes, abuso de álcool, entre outros<sup>23; 24</sup>.

Acredita-se que a adesão microbiana ocorra preferencialmente em superfícies rugosas, uma vez que, os microrganismos, em tais superfícies, são mais protegidos e podem, dessa forma, ter tempo necessário para alcançar um contato direto e diminuir essa distância<sup>15</sup>. Com isso, sugere-se que a rugosidade de superfície do material é de grande importância clínica no processo de retenção

bacteriana. Alguns estudos relatam que o polimento do material pode levar à rugosidade de superfície abaixo do limiar  $R_a$  considerado necessário para adesão celular, dependendo da granulação da lixa<sup>25</sup>, enquanto outros relataram um aumento na rugosidade após os procedimentos de polimento<sup>26</sup>, não havendo um consenso sobre o nível mínimo de rugosidade necessário para que ocorra a adesão.

Uma vez que o comportamento de adesão microbiana em polímeros depende do microrganismo colonizador e supostamente da rugosidade de superfície do material, verifica-se a importância de avaliar a relação da rugosidade de superfície de resinas acrílicas na adesão de diferentes microrganismos. Contudo não foram encontrados na literatura estudos que analisaram essa relação em resina acrílica específica para prótese ocular.



# Objetivo

Este estudo teve como objetivos:

1. Analisar quantitativamente e qualitativamente a rugosidade de superfície de resina acrílica para prótese ocular submetida a polimento com lixas de diferentes granulações.
2. Avaliar a interferência dos diferentes níveis de polimento na adesão e formação de biofilme de diferentes microrganismos (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *C. albicans* e *E. faecalis*) recorrentes na cavidade anoftálmica de usuários de prótese ocular, nas superfícies da resina acrílica para prótese ocular.

# *Hipótese*

As hipóteses nulas desse estudo foram:

1. As rugosidades de superfície da resina acrílica não diferirão entre os diferentes polimentos de superfície.
2. A adesão dos microrganismos não será influenciada pelos diferentes polimentos realizados nas superfícies da resina acrílica.

# *Materiais e Método*

- *Confeção dos corpos de prova em resina acrílica*

Para a confecção dos corpos de prova em resina acrílica, foi utilizada uma matriz metálica vazada contendo em seu interior 10 compartimentos circulares, com dimensões de 10 mm de diâmetro cada e 3 mm de espessura. Esta matriz foi aderida a uma lâmina de vidro retangular. Em seguida o conjunto lâmina de vidro + matriz metálica foi incluído em mufla própria para polimerização em forno micro-ondas (VIPI STG, VIPI Indústria, Pirassununga, São Paulo, Brazil), sendo preenchido com gesso especial tipo IV (Durone; Dentsply Ind e Com Ltd, Rio de Janeiro, Brazil). Após a cristalização do gesso, outra lâmina de vidro foi posicionada sobre a matriz já incluída. A contra-mufla foi posicionada e sobre a superfície desta última lamina de vidro foi vertido gesso especial tipo IV. Após a cristalização, a mufla foi aberta, a resina acrílica termopolimerizável N1 (cor branca) para esclera artificial (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, Brasil) foi proporcionada, manipulada e inserida no interior das superfícies da matriz. Após a inserção, a contra-mufla foi posicionada e levada a prensa hidráulica (VH, Midas Dental Produtos Ltda., Araraquara, São Paulo, Brasil) com força de 1200 Kg/F, durante 2 min (minutos), e realizada a polimerização de bancada por 30 min e por energia de microondas durante 10 min. Após a polimerização da resina, a mufla foi aberta e os corpos de prova removidos. Em seguida, as superfícies dos corpos de prova foram submetidas ao polimento durante 3 min, utilizando-se lixas metalográficas, em diferentes granulações (Buehler, Illinois, EUA) e em determinado grupo, foi utilizada solução sílica coloidal (Buehler, Illinois, EUA) de cor azul, granulometria de 1 micra. E após os polimentos, foi realizada limpeza em ultrassom, para remoção de possíveis *debris*.

Um total de 432 corpos de prova foi confeccionado. Deste total, 144 foram divididos para os períodos de 4h (horas), 24 h e 48h de crescimento e adesão bacteriana. 36 corpos de prova foram inoculados com um dos quatro microrganismos avaliados. Para cada microrganismo, os corpos de prova foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos (6 corpos de prova por grupo, sendo 3 para cada experimento): Grupo 1: polimento com lixa 1200 e solução diamantada de 1 micra; Grupo 2: polimento com lixa de granulação 1200; Grupo 3: polimento com lixa 800; Grupo 4: polimento com lixa 400; Grupo 5: polimento com lixa 120; Grupo 6: superfície não polida. Após o polimento superficial, os corpos de prova foram esterilizados com óxido de etileno.

- ***Inoculação e condições de crescimento***

Foram utilizadas as cepas de *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 35984); *Staphylococcus aureus* (ATCC29213); *Candida albicans* (ATCC 90028) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Todas as cepas foram doadas pela Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro. As células foram mantidas em -70°C em solução contendo 25% de glicerol, semeadas em placas contendo meio de cultura adequado para cada microrganismo, e incubadas a 37°C em aerobiose por 24 h. Os meios de cultura usados para cada espécie foram: Sabouraud Dextrose Agar (Difco, Kansas City, MO, USA) para *C.albicans*, m-Enterococcus Agar (Difco, Kansas City, MO, USA), para *E.faecalis* e Manitol Salt Agar (Difco, Kansas City, MO, USA) para *S.epidermidis* e *S.aureus*.

Inicialmente, curvas de crescimento foram realizadas para cada microrganismo com a finalidade de identificar o número de horas necessárias para que cada um deles atingisse sua fase de maior multiplicação celular (fase log ou exponencial), o que foi determinado pelos valores de Densidade Óptica (DO). As culturas foram então repicadas em meio caldo BHI (Difco) ou Sabouraud Dextrose e mantidas por 24h a 37°C em estufa de aerobiose. Ao atingir metade da fase

logarítmica, as células foram ajustadas, sendo diluídas em 10x, 100x ou 1000x em BHI caldo 2x concentrado, dependendo de cada microrganismo, para obtenção de  $10^7$  células/ml.

- ***Ensaio de Adesão e Contagem dos Microorganismos***

Após o crescimento e obtenção de  $10^7$  células/ml, alíquotas de 1ml do microrganismos foram colocadas em contato com os corpos de prova de resina acrílica posicionados dentro de placas de microtitulação de 24 poços. Suspensões bacterianas foram incubadas em poços sem o corpo de prova, para controle negativo. O controle positivo deste estudo foi o meio BHI ou Sabouraud Dextrose, para os testes com *C.albicans*, sem o microrganismo. As placas foram incubadas por 4, 24 e 48 horas a 37° C, em estufa de aerobiose. Após cada período, as células não aderidas foram removidas dos corpos de prova por meio de lavagem em 1ml de solução salina. Em seguida, cada corpo de prova foi inserido em tubos de ensaio contendo 1mL de solução salina. Os tubos foram levados para banho de limpeza por ultrassom (USC 700; UNIQUE Ultrasonic Cleaner, São Paulo, SP) a 50 kHz, 150 W, durante 20min, e ao agitador de tubos (Vórtex Biomixer QL – 901, Curitiba, PR, Brasil), por 1min para promover o desprendimento das células aderidas. Foram, então, realizadas 7 diluições seriadas, transferindo-se 10 ul dessa solução para 90 ul de solução salina. As diluições 4 e 7 foram plaqueadas em placa de Petri, contendo meios adequados para cada microrganismo avaliado e incubadas por 24 horas à 37°C em estufa de aerobiose. Após o período de incubação, foi feita a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL). Os ensaios foram realizados em duplicata, em dois dias independentes.

- ***Análise da rugosidade de superfície***

A rugosidade de superfície de todos os corpos de prova foi determinada por meio de um perfilômetro (Dektak d-150; Veeco, Plainview, Nova York, EUA). Um corpo de prova foi

individualmente posicionado no centro do equipamento e a ponta medidora do perfilômetro incidiu na superfície do mesmo. Os valores de Ra (média aritmética da rugosidade de superfície) foram mensurados usando *cut off* de 500  $\mu\text{m}$ , no tempo constante de 12 segundos. Três leituras foram realizadas sobre cada superfície e a média foi calculada. Os valores originais foram dados em Angström ( $\text{\AA}$ ), e a partir de então transformados para a escala micrométrica ( $\mu\text{m}$ ).

- ***Caracterização das Superfícies por AFM (Microscopia de Força Atômica)***

Um corpo de prova de cada grupo de lixa para polimento foram analisados pela AFM (AFM; Veeco Metrology Inc., Santa Barbara, CA, EUA). As imagens obtidas foram transportadas do microscópio para um computador. Em seguida, foram enviadas para o programa Nanoscope Analysis (2004 Veeco Instruments Inc., Santa Barbara, CA, EUA), e submetidas aos filtros (“lowpass” e medium”). Todas as imagens em três dimensões (3D) foram padronizadas em escala de altura mínima de -100 nm e máxima de 100 nm (eixo z) para posterior comparação qualitativa entre os grupos.

*Análise Estatística*

Foram obtidas as médias dos valores numéricos da análise da rugosidade de superfície. A contagem de microrganismos dos corpos de prova, para cada grupo, tempo de incubação e microrganismo foram submetidos ao teste de aderência à curva normal, a fim de se determinar se os mesmos provinham ou não de uma distribuição normal. Uma vez que esses dados não provinham de distribuição não normal, testes estatísticos não paramétricos apropriados foram aplicados para comparar as médias através dos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney

## *Resultados*

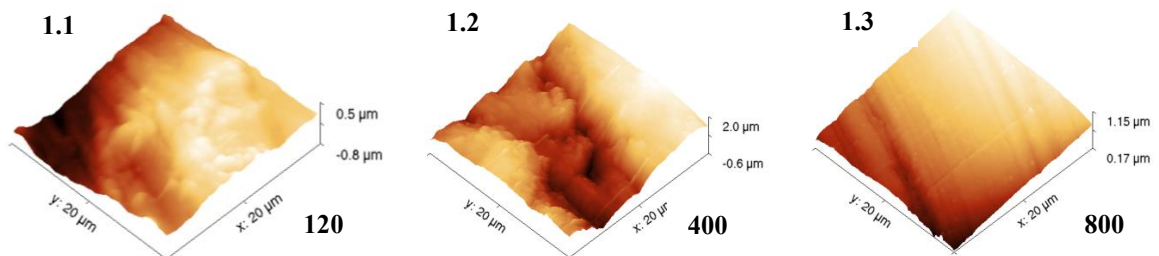
A tabela 1 mostra os valores médios de rugosidade Ra para cada grupo de polimento. Podemos observar que os grupos que apresentaram maiores valores médios foram 120 e 400. Os outros grupos apresentaram valores extremamente pequenos de rugosidade Ra, demonstrando, também, uma pequena diferença entre esses valores.

**Tabela 1:** Valores médios de rugosidade Ra ( $\mu\text{m}$ ) para cada grupo de polimento.

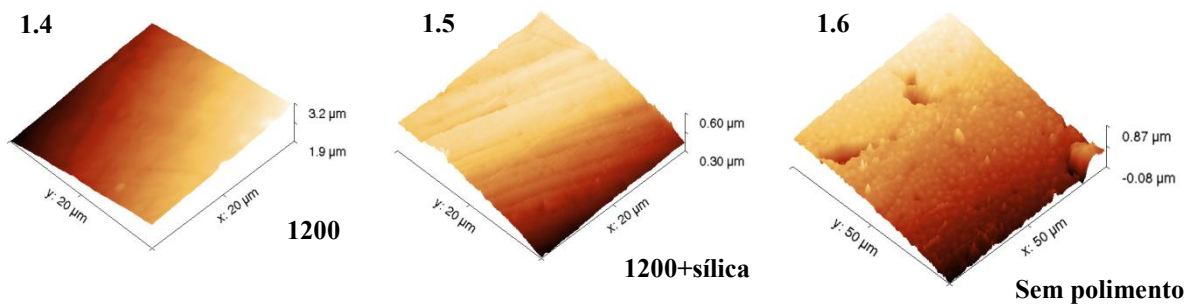
Grupo	120	400	800	1200	1200S	Sem polimento
Média Ra ( $\mu\text{m}$ )	1,72	0,52	0,03	0,02	0,03	0,05

A análise qualitativa referente à lisura superficial das imagens 3D do estudo mostra diferenças aparentes na imagem quanto à formação de irregularidades ao longo das extensões avaliadas. Assim, os grupos 120 e 400 apresentam as imagens que evidenciaram irregularidades com fendas e orifícios mais expressivos (estriações), ou mesmo o interior de uma fenda, ou seja, a formação de um “vale” mais profundo, no entanto sem a definição do ponto mais superior dos “picos”, comparando-se àquelas que mantiverem ainda a característica de superfície polida (800, 1200 e 1200S) e não polimento, embora o grupo Sem Polimento apresente certas irregularidades em sua superfície.

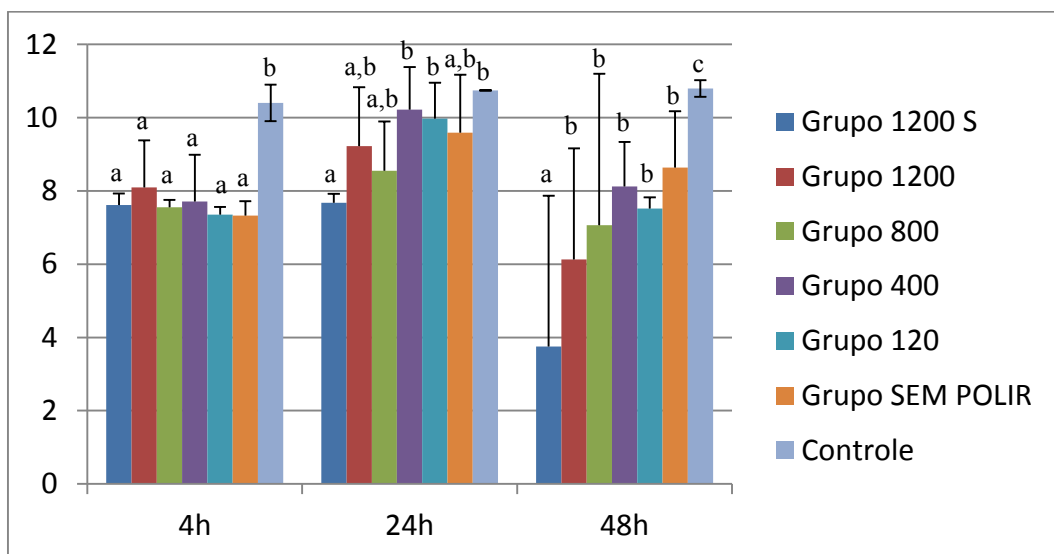
**Figura 1:** Imagens da Microscopia de Força Atômica para cada grupo de polimento





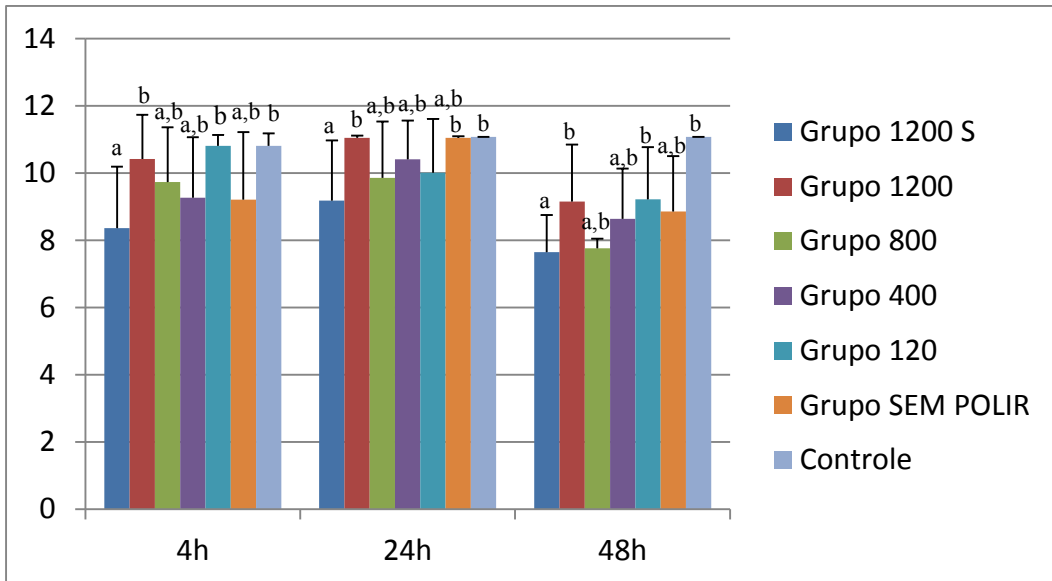


Os gráficos de 1 a 3 mostram os valores de crescimento microbiano para as espécies bacterianas. Podemos observar que, para *S. epidermidis*, todos os grupos diferiram do controle nos tempos 4 e 48h. O grupo 1200S diferiu do controle em todos os tempos e teve os menores valores de crescimento bacteriano, após 24 e 48h de crescimento (Gráfico 1).



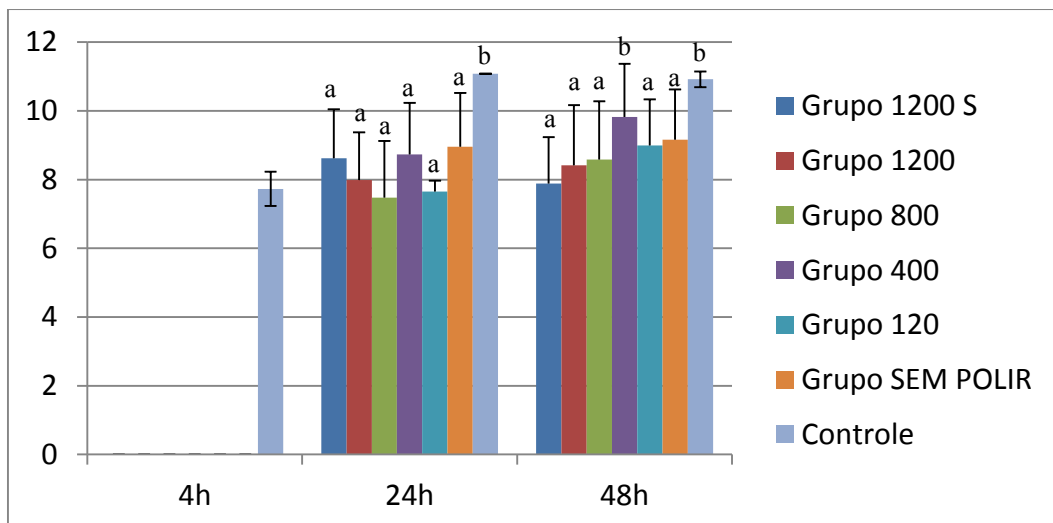
**Gráfico 1:** Média (desvio-padrão) da contagem da UFC/ml (em escala logarítmica) de *S. epidermidis* para cada grupo de granulação. <sup>a</sup> Letras minúsculas diferentes mostram diferença estatística entre cada grupo, de acordo com os testes de Mann-Whitney, considerando  $p \leq 0,05$ .

O Gráfico 2 mostra que para *S. aureus* somente o grupo 1200S apresentou os menores valores de crescimento bacteriano, com diferença significativa em relação ao controle.



**Gráfico 2:** Média (desvio-padrão) da contagem da UFC/ml (em escala logarítmica) de *S. aureus* para cada grupo de granulação. Letras minúsculas diferentes mostram diferença estatística entre cada grupo, de acordo com os testes de Mann-Whitney, considerando  $p \leq 0,05$ .

Para *E. faecalis*, podemos observar que a adesão inicial provavelmente levou mais de 4 horas para ocorrer, pois em nossa análise em 4 h, não observamos crescimento de microrganismos. Além disso, com exceção do grupo 400 em 48 h, todos os materiais diferiram do controle, mas não entre si (Gráfico 3).



**Gráfico 3:** Média (desvio-padrão) da contagem da UFC/ml (em escala logarítmica) de *E. faecalis* para cada grupo de granulação. <sup>a</sup> Letras minúsculas diferentes mostram diferença estatística entre cada grupo, de acordo com os testes de Mann-Whitney, considerando  $p \leq 0,05$ .

As tabelas 2, 3 e 4 mostram que não houve crescimento de *C. albicans* nas superfícies da resina acrílica, independente do polimento e do período de crescimento.

**Tabela 2 – Adesão *C. albicans* em 4 horas**

	Média	% red controle	DP	%red DP
Grupo 1200 S	0	100	0	0
Grupo 1200	0	100	0	0
Grupo 800	0	100	0	0
Grupo 400	0	100	0	0
Grupo 120	0	100	0	0
Grupo SEM POLIR	0	100	0	0
Grupo SD + C.a.	7,7788306	-0,049011	7,778831	-0,0490115

**Tabela 3 – Adesão *C. albicans* em 24 horas**

	Média	% red controle	DP	%red DP
Grupo 1200 S	0	100	0	0
Grupo 1200	0	100	0	0
Grupo 800	0	100	0	0
Grupo 400	0	100	0	0
Grupo 120	0	100	0	0

Grupo SEM POLIR	0	100	0	0
Grupo SD + C.a.	10,8750103	-0,04590277	10,87501	-0,04590277

**Tabela 4** – Adesão *C. albicans* em 48 horas

	Média	% red controle	DP	%red DP
Grupo 1200 S	0	100	0	0
Grupo 1200	0	100	0	0
Grupo 800	0	100	0	0
Grupo 400	0	100	0	0
Grupo 120	0	100	0	0
Grupo SEM POLIR	0	100	0	0
Grupo SD + C.a.	8,998606	-0,03753	8,9986	-0,037532

## Discussão

As hipóteses deste estudo de que: 1 - as diferentes rugosidades de superfície da resina acrílica não difeririam quanto ao crescimento dos microrganismos foi confirmado pelo fato de que não houve diferenças significativas entre os diferentes grupos de polimento; 2- as diferentes granulações de lixas para polimento não promoveriam diferenças significantes nos valores de rugosidade de superfície foi parcialmente aceita, uma vez que para *E.faecalis*, houve diferença estatística significativa no crescimento de microrganismos no grupo polido com a granulação de

400. O modelo de crescimento bacteriano utilizado neste estudo simulou *in vitro* as condições do crescimento estático do biofilme que se encontram na superfície de contato de uma prótese ocular com o tecido da membrana conjuntiva.

A adesão inicial de microrganismos às superfícies dos materiais é a chave principal para a colonização desse material <sup>26; 27</sup>. Quando uma bactéria se adere e prolifera na superfície de um material, elas produzem substâncias poliméricas extracelulares e formam o biofilme, o qual recobre as bactérias e as protege contra o sistema imune e agentes antimicrobianos <sup>25</sup>. Durante o processo de adesão, a bactéria se adere firmemente à superfície do material através de interações físico-químicas, que compreendem a hidrofobicidade e carga da superfície celular, bem como a rugosidade e composição química da superfície do material <sup>27; 28</sup>.

Recentemente, existe um grande número de relatos a respeito do impacto das propriedades físicas dos materiais na adesão bacteriana <sup>29; 30; 31; 32; 33; 34; 35</sup> e uma relação particularmente forte entre a adesão bacteriana e rugosidade de superfície tem sido destacada <sup>25; 32; 33; 34; 35</sup>. Considera-se que a rugosidade do material é uma propriedade relevante para o processo de adesão celular, já que as irregularidades da superfície polimérica promovem um aumento da área de superfície e depressões que fornecem sítios mais favoráveis para colonização, tais como fendas ou fissuras que protegem as células contra as forças de cisalhamento <sup>27; 29</sup>.

Diversos relatos anteriores mostraram que a adesão bacteriana *in vivo* é primeiramente determinada por uma rugosidade de superfície Ra maior que 0.2 $\mu$ m <sup>15; 25; 36; 37; 38</sup>. Entretanto, observamos em nosso estudo que, até mesmo os grupos com menores valores de Ra (0,02; 0,03 e 0,05) apresentaram crescimento bacteriano (Tabelas 1, Gráficos 1, 2 e 3). Esses dados corroboram com o estudo de Yoda et al, 2014<sup>25</sup>, que avaliaram a adesão de microrganismos em superfícies de diferentes biomateriais e obtiveram como resultado que mesmo as superfícies

com níveis de rugosidade abaixo de 30 nm (0,03  $\mu\text{m}$ ) podem promover adesão bacteriana. Ainda, Lee et.al. em 2011<sup>39</sup>, também observaram crescimento bacteriano em superfícies de resina composta, titânio e zircônia, todas com rugosidades abaixo de 0,2 $\mu\text{m}$  (Ra= 0,179; 0,059 e 0,064  $\mu\text{m}$  respectivamente). Essas afirmações indicam que não há um consenso a respeito do nível mínimo de rugosidade para adesão microbiana e que esta pode diferir de acordo com o material utilizado e com a capacidade do microrganismo de se aderir às diferentes superfícies. Ao comparar os níveis de rugosidade em cada grupo, (Figura 1, Tabela 1) é impossível afirmar se o grau de adesão bacteriana foi afetados apenas por essa propriedade.

Assim, observa-se que a adesão bacteriana é um fenômeno multifatorial, e que a rugosidade de superfície não é a única característica influente nesse processo<sup>25</sup>. A resina acrílica é um polímero conhecido por sua propensão à adesão microbiana. Dessa forma, outros fatores também estão ligados ao potencial de adesão microbiana de sua superfície, tais como sua hidrofobicidade, interações eletrostáticas e energia de superfície<sup>40</sup>.

Estudos relatam que parece haver uma preferência dos microrganismos por aderir em superfícies mais rugosas, com riscos e ranhuras<sup>27</sup>. Entretanto, no nosso estudo observamos que, com exceção do grupo 1200 S, que recebeu polimento com lixa de granulação 1200 e solução diamantada a base de sílica, os outros grupos, no geral, não diferiram entre si quanto aos valores de crescimento bacteriano (Gráficos 1, 2, 3). Isso pode ser parcialmente explicado pelas diferenças relativamente pequenas nas rugosidades de superfícies dos corpos de prova de resina acrílica<sup>36</sup>. Estudos prévios<sup>37; 38</sup> relataram que pequenas variações na rugosidade de superfície não apresentam efeito significativo na adesão bacteriana. Esses dados corroboram com o estudo de Taha et al. 2015,<sup>36</sup> que avaliaram a adesão de microrganismos, entre eles *S.aureus* e *C.albicans*, em 3 tipos de fios ortodônticos com diferentes rugosidades, e não encontraram diferença significativa entre os grupos. Ainda em concordância com nossos resultados, alguns

autores <sup>41; 42; 43; 44</sup>, relatam que nem sempre é observada uma relação linear entre a adesão bacteriana e a rugosidade de superfície. Um pequeno aumento na rugosidade pode levar a um aumento significativo na adesão de bactérias, enquanto que um grande aumento da rugosidade pode não ter efeito significativo na adesão<sup>27</sup>.

Embora a imagem de MFA mostre certa irregularidade na superfície do grupo sem polimento (Figura 1 – Sem Polimento), o valor médio de Ra desse grupo foi baixo e semelhante aos grupos com maiores graus de polimento (Tabela 1). Ainda, o grupo sem polimento não diferiu estatisticamente dos grupos com polimento em relação ao crescimento bacteriano (Gráficos 1, 2 e 3). Esses dados podem ter resultado da compressão da resina acrílica contra uma placa de vidro no momento da confecção dos corpos de prova, o que pode ter acarretado uma superfície lisa, semelhante aos grupos que receberam polimentos refinados, e desta forma, valores similares de rugosidade e de crescimento bacteriano foram observados.

Observamos que para as espécies de cocos, o grupo com polimento mais refinado (1200 S) foi estatisticamente diferente do controle para todos os períodos e microrganismos avaliados, sendo que, principalmente para *S.aureus* e *S.epidermidis*, este grupo apresentou, no geral, os menores valores de crescimento bacteriano, embora possamos observar nas imagens de MFA e nos valores de rugosidade Ra, que não tenha havido diferença drástica em relação aos grupos 800, 1200 e C,. (Tabela 1, Figura 1, Gráficos 1,2,3). Este resultado pode ter ocorrido em razão da implantação do íon Silício (Si), presente na solução diamantada utilizada no polimento, o que tornou a superfície menos atrativa afetando o processo de adesão. O íon Si pode reduzir a energia de superfície, e o ângulo de contato, influenciando na molhabilidade e dificultando a adesão de microrganismos. O resultado obtido está de acordo com os estudos de Zhao, no qual foi observado que na presença de SiF<sub>3</sub> em aço inoxidável, houve uma redução na adesão de microrganismos <sup>45</sup>. Além disso, Rashid et al. 2014 <sup>46</sup> relatam que o uso de solução diamantada

para polimento favorece a prevenção de acúmulo de microrganismos na superfície dos materiais.

Um fato interessante observado em nossos resultados e que difere da maioria dos estudos encontrados<sup>40; 47; 48</sup>, foi de que a *C. albicans* não aderiu às superfícies das corpos de prova de resina acrílica, independente do grau de polimento realizado. (Tabela 2, 3, 4). Os baixos índices de adesão da *C. albicans* podem estar associados à morfologia do fungo, visto que as células de *C. albicans* são fisicamente grandes (4 a 6  $\mu\text{m}$ )<sup>47</sup> e possuem longos filamentos em sua forma, limitando sua adesão ao nicho estreito das ranhuras da superfície e fazendo com que sua ligação não seja estável<sup>47</sup>. Ainda, sabe-se que a presença de bactérias facilita a adesão de células de *Candida* à resina acrílica principalmente pela produção de polímeros extracelulares bem como pelo aumento da acidez, o que cria condições ambientais favoráveis para o crescimento do fungo<sup>48</sup>. No nosso estudo, entretanto, avaliamos biofilmes isolados de cada microrganismo e, desta forma, as cepas de *C.albicans* não contaram com a presença de outros microrganismos para auxiliar no seu crescimento.

Embora nossos resultados não tenham demonstrado relação entre a rugosidade de superfície e a adesão microbiana, não se deve negligenciar as etapas de polimento durante a confecção das próteses oculares, uma vez que a adesão bacteriana não é determinada apenas por essa propriedade isolada e a rugosidade não deve ser considerada apenas em relação à adesão microbiana. Outros fatores também estão associados à essa propriedade como o conforto e estética satisfatória ao paciente.

Sabe-se que com o uso contínuo e a utilização de soluções de higienização da prótese ocular, a rugosidade de superfície pode alcançar valores maiores e talvez causar interferência na adesão de microrganismos. Entretanto, apenas com os diferentes níveis de polimento, não foi possível determinar um valor mínimo no nosso estudo para que a adesão acontecesse, uma



vez que vários fatores estão envolvidos na adesão bacteriana e a ação química e biológica sobressaíram em relação à rugosidade.

## Conclusão

Podemos concluir que:

1. As diferentes granulações de lixa não levaram a valores drasticamente diferentes de rugosidade Ra.
2. As diferentes rugosidades não interferiram estatisticamente na adesão e crescimento microbiano nas superfícies dos corpos de prova, exceto o grupo 1200S em relação às espécies de bactérias.
3. A adição de solução sílica no polimento interferi positivamente na adesão de biofilme.
4. *Candida albicans* não aderiu às superfícies.

## *Referências*

- 1 HUBER, H.; STUDER, S. P. Materials and techniques in maxillofacial prosthodontic rehabilitation. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am**, v. 14, n. 1, p. 73-93, Feb 2002. ISSN 1042-3699.
- 2 GOIATO, M. C. et al. Positioning magnets on a multiple/sectional maxillofacial prosthesis. **J Contemp Dent Pract**, v. 8, n. 7, p. 101-7, 2007. ISSN 1526-3711.
- 3 HATAMLEH, M. M. et al. Maxillofacial prosthetic rehabilitation in the UK: a survey of maxillofacial prosthetists' and technologists' attitudes and opinions. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 39, n. 12, p. 1186-92, Dec 2010. ISSN 0901-5027.

- 4 GOIATO, M. C. et al. Incidents malignant neoplasias maxillofacial area. **J Craniofac Surg**, v. 20, n. 4, p. 1210-3, Jul 2009. ISSN 1049-2275.
- 5 Most frequent tumors in maxillofacial area rehabilitated through surgical reconstruction and prostheses. **J Craniofac Surg**, v. 21, n. 2, p. 396-9, Mar 2010. ISSN 1049-2275.
- 6 SONG, J. S.; OH, J.; BAEK, S. H. A survey of satisfaction in anophthalmic patients wearing ocular prosthesis. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**, v. 244, n. 3, p. 330-5, Mar 2006. ISSN 0721-832X.
- 7 RAIZADA, K.; RANI, D. Ocular prosthesis. **Cont Lens Anterior Eye**, v. 30, n. 3, p. 152-62, Jul 2007. ISSN 1367-0484
- 8 GOIATO, M. C. et al. Patient satisfaction with maxillofacial prosthesis. Literature review. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**, v. 62, n. 2, p. 175-80, Feb 2009. ISSN 1748-6815.
- 9 FERNANDES, A. U.; GOIATO, M. C.; DOS SANTOS, D. M. Effect of weathering and thickness on roughness of acrylic resin and ocular button. **Cont Lens Anterior Eye**, v. 33, n. 3, p. 124-7, Jun 2010. ISSN 1367-0484.

- 10 Effect of weathering and thickness on the superficial microhardness of acrylic resin and ocular button. **Cont Lens Anterior Eye**, v. 32, n. 6, p. 283-7, Dec 2009. ISSN 1367-0484.
- 11 GOIATO, M. C. et al. Effect of disinfection and storage on the flexural strength of ocular prosthetic acrylic resins. **Gerodontology**, v. 29, n. 2, p. e838-44, Jun 2012. ISSN 0734-0664.
- 12 MORENO, A. et al. Effect of different disinfectants on the microhardness and roughness of acrylic resins for ocular prosthesis. **Gerodontology**, v. 30, n. 1, p. 32-9, Mar 2013. ISSN 0734-0664.
- 13 BANNWART, L. C. et al. Chromatic changes to artificial irises produced using different techniques. **J Biomed Opt**, v. 18, n. 5, p. 58002, May 2013. ISSN 1083-3668.
- 14 DAYAL, Y.; RAO, S. S.; MAHAJAN, V. M. Comparative study of bacterial and fungal floras of contracted sockets and fellow eyes. **Ann Ophthalmol**, v. 16, n. 2, p. 154, 156, 158 passim, Feb 1984. ISSN 0003-4886
- 15 BOLLEN, C. M.; LAMBRECHTS, P.; QUIRYNEN, M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. **Dent Mater**, v. 13, n. 4, p. 258-69, Jul 1997. ISSN 0109-5641

- 16 ARCIOLA, C. R. et al. Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. **Biomaterials**, v. 33, n. 26, p. 5967-82, Sep 2012. ISSN 0142-9612.
- 17 VEYRIES, M. L. et al. Control of staphylococcal adhesion to polymethylmethacrylate and enhancement of susceptibility to antibiotics by poloxamer 407. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 44, n. 4, p. 1093-6, Apr 2000. ISSN 0066-4804
- 18 VACHEETHASANEE, K.; MARCHANT, R. E. Surfactant polymers designed to suppress bacterial (Staphylococcus epidermidis) adhesion on biomaterials. **J Biomed Mater Res**, v. 50, n. 3, p. 302-12, Jun 5 2000. ISSN 0021-9304
- 19 SINGH, D. et al. Bacterial contamination of hospital pagers. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 23, n. 5, p. 274-6, May 2002. ISSN 0899-823X
- 20 RISHI, E. et al. Endophthalmitis caused by Enterococcus faecalis: a case series. **Retina**, v. 29, n. 2, p. 214-7, Feb 2009. ISSN 0275-004x.
- 21 PENG, C. H. et al. Multiresistant enterococci: a rare cause of complicated corneal ulcer and review of the literature. In: (Ed.). **Can J Ophthalmol**. Canada, v.44, 2009. p.214-5. ISBN 0008-4182

- 22 PARANHOS, R. M. et al. Evaluation of ocular prosthesis biofilm and anophthalmic cavity contamination after use of three cleansing solutions. **J Appl Oral Sci**, v. 15, n. 1, p. 33-8, Feb 2007. ISSN 1678-7757.
- 23 SCHERER, W. J.; LEE, K. Implications of early systemic therapy on the incidence of endogenous fungal endophthalmitis. **Ophthalmology**, v. 104, n. 10, p. 1593-8, Oct 1997. ISSN 0161-6420
- 24 WILLIAMS, M. A. et al. Diagnosis and treatment of endogenous fungal endophthalmitis. **Ophthalmologica**, v. 220, n. 2, p. 134-6, 2006. ISSN 0030-3755
- 25 YODA, I. et al. Effect of surface roughness of biomaterials on Staphylococcus epidermidis adhesion. **BMC Microbiol**, v. 14, p. 234, 2014. ISSN 1471-2180.
- 26 LONEY, R. W. et al. Finishing and polishing of a poly (fluoroalkoxyphosphazene) resilient denture liner. **Int J Prosthodont**, v. 7, n. 4, p. 362-7, Jul-Aug 1994. ISSN 0893-2174
- 27 SOUSA, C.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R. Influence of Surface Properties on the Adhesion of Staphylococcus epidermidis to Acrylic and Silicone. **Int J Biomater**, v. 2009, p. 718017, 2009. ISSN 1687-8787.

- 28 AN, Y. H.; FRIEDMAN, R. J. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. **J Biomed Mater Res**, v. 43, n. 3, p. 338-48, Fall 1998. ISSN 0021-9304
- 29 KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. **Eur Cell Mater**, v. 8, p. 37-57, Dec 7 2004. ISSN 1473-2262.
- 30 BUSSCHER, H. J.; VAN DER MEI, H. C. Physico-chemical interactions in initial microbial adhesion and relevance for biofilm formation. **Adv Dent Res**, v. 11, n. 1, p. 24-32, Apr 1997. ISSN 0895-9374
- 31 GOTTENBOS, B. et al. Initial adhesion and surface growth of *Pseudomonas aeruginosa* on negatively and positively charged poly(methacrylates). **J Mater Sci Mater Med**, v. 10, n. 12, p. 853-5, Dec 1999. ISSN 0957-4530
- 32 SCHEUERMAN, T. R.; CAMPER, A. K.; HAMILTON, M. A. Effects of Substratum Topography on Bacterial Adhesion. **J Colloid Interface Sci**, v. 208, n. 1, p. 23-33, Dec 1 1998. ISSN 0021-9797.
- 33 TEUGHEL, W. et al. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. **Clin Oral Implants Res**, v. 17 Suppl 2, p. 68-81, Oct 2006. ISSN 0905-7161.

- 34 SUBRAMANI, K. et al. Biofilm on dental implants: a review of the literature. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 24, n. 4, p. 616-26, Jul-Aug 2009. ISSN 0882-2786
- 35 QUIRYNEN, M. et al. An in vivo study of the influence of the surface roughness of implants on the microbiology of supra- and subgingival plaque. **J Dent Res**, v. 72, n. 9, p. 1304-9, Sep 1993. ISSN 0022-0345
- 36 TAHA, M.; EL-FALLAL, A.; DEGLA, H. In vitro and in vivo biofilm adhesion to esthetic coated arch wires and its correlation with surface roughness. **Angle Orthod**, Jun 25 2015. ISSN 0003-3219.
- 37 BOLLEN, C. M. et al. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. **Clin Oral Implants Res**, v. 7, n. 3, p. 201-11, Sep 1996. ISSN 0905-7161
- 38 QUIRYNEN, M.; BOLLEN, C. M. 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**, v. 22, n. 1, p. 1-14, Jan 1995. ISSN 0303-6979
- 39 LEE, B. C. et al. Initial bacterial adhesion on resin, titanium and zirconia in vitro. **J Adv Prosthodont**, v. 3, n. 2, p. 81-4, Jun 2011. ISSN 2005-7806.



- 40 ZAMPERINI, C. A. et al. In vitro adhesion of *Candida glabrata* to denture base acrylic resin modified by glow-discharge plasma treatment. **Mycoses**, v. 56, n. 2, p. 134-44, Mar 2013. ISSN 0933-7407.
- 41 TAYLOR, R. L. et al. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. **J Mater Sci Mater Med**, v. 9, n. 1, p. 17-22, Jan 1998. ISSN 0957-4530
- 42 LEE, H. J. et al. Effect of garlic on bacterial biofilm formation on orthodontic wire. **Angle Orthod**, v. 81, n. 5, p. 895-900, Sep 2011. ISSN 0003-3219.
- 43 LEE, S. P. et al. Surface characteristics of orthodontic materials and their effects on adhesion of mutans streptococci. **Angle Orthod**, v. 79, n. 2, p. 353-60, Mar 2009. ISSN 0003-3219
- 44 KIM, I. H. et al. Comparative short-term in vitro analysis of mutans streptococci adhesion on esthetic, nickel-titanium, and stainless-steel arch wires. **Angle Orthod**, v. 84, n. 4, p. 680-6, Jul 2014. ISSN 0003-3219.
- 45 ZHAO, Q. et al. Reduction of bacterial adhesion on ion-implanted stainless steel surfaces. **Med Eng Phys**, v. 30, n. 3, p. 341-9, Apr 2008. ISSN 1350-4533
- 46 RASHID, H. The effect of surface roughness on ceramics used in dentistry: A review of literature. **Eur J Dent**, v. 8, n. 4, p. 571-9, Oct 2014. ISSN 1305-7456.

- 47 SILVA, S. et al. The effect of silver nanoparticles and nystatin on mixed biofilms of *Candida glabrata* and *Candida albicans* on acrylic. **Med Mycol**, v. 51, n. 2, p. 178-84, Feb 2013. ISSN 1369-3786.
- 48 IZUMIDA, F. E. et al. In vitro evaluation of adherence of *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Streptococcus mutans* to an acrylic resin modified by experimental coatings. **Biofouling**, v. 30, n. 5, p. 525-33, 2014. ISSN 0892-7014.