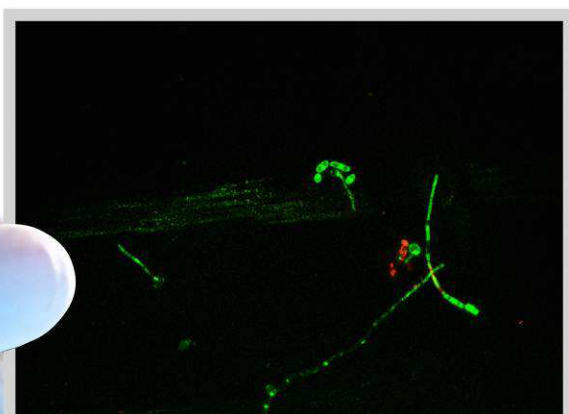
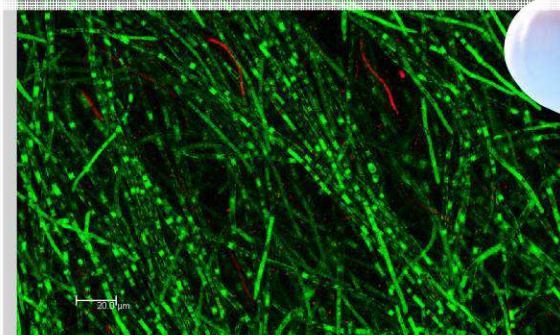


UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

FLORA FREITAS FERNANDES TÁVORA



**Efeito do etil-cianoacrilato (Super Bonder ®) e do polidor líquido de baixa viscosidade (Biscover ®) sobre biofilme de *Candida albicans* em resina acrílica para reembasamento.**



BAURU

2011



**FLORA FREITAS FERNANDES TÁVORA**

**Efeito do etil-cianoacrilato (Super Bonder ®) e do polidor líquido de baixa viscosidade (Biscover ®) sobre biofilme de *Candida albicans* em resina acrílica para reembasamento.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto.

BAURU

2011

Távora, Flora Freitas Fernandes

T198e            Efeito do etil-cianoacrilato (Super Bonder ®) e do polidor líquido de baixa viscosidade (Biscover ®) sobre biofilme de *Candida albicans* em resina acrílica para reembasamento. / Flora Freitas Fernandes Távora, - - Bauru, 2011.

107p.:il. ; 31cm

Tese. (Doutorado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto

**Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processo fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.**

**Assinatura do autor:** \_\_\_\_\_

**Data:** \_02/\_12/\_2011

## FOLHA DE APROVAÇÃO



---

---

## DADOS CURRICULARES

### FLORA FREITAS FERNANDES TÁVORA

Nascimento	18 de maio de 1979.
Fortaleza - Ceará	
1997 - 2002	Graduação em Odontologia pela Fundação Edson Queiroz – Universidade de Fortaleza (UNIFOR).
2002 - 2004	Especialização em Prótese Dentária pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
2003 - 2004	Aperfeiçoamento em Implante Odontológico - Parte Protética, pelo Instituto de Ensino Odontológico (IEO).
2005 - 2007	Pós Graduação em Reabilitação Oral em nível de Mestrado pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP).
2007 - 2011	Pós Graduação em Reabilitação Oral em nível de Doutorado pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB-USP).

---

---





---

---

# *Dedicatória*

## **Aos meus pais, José e Leonice.**

Pai, obrigada por ser meu exemplo de força, segurança, inteligência e por ter sempre me mostrado que existem inúmeras coisas a serem aprendidas além da Odontologia. Te amo!

Mãe, obrigada por ser essa mulher sensível, pura, inteligente e por estar sempre presente em todos os momentos da minha vida, independentemente da distância! Obrigada por ter acreditado em mim e incentivado para que eu seguisse em frente!! Você não é simplesmente minha mãe, é minha melhor amiga! Te amo!

## **Ao meu marido Luciano.**

Obrigada pelos momentos especiais e pela convivência agradável. Com toda a certeza os meus dias aqui em Bauru são mais felizes quando você está ao meu lado, e não nos ares! Não poderia deixar de dedicar esse trabalho a você, já que a minha permanência em Bauru, para a realização desse curso, dependeu do seu sacrifício e da sua compreensão em ter que viajar muito mais do que o necessário. Amo você!

## **Ao meu filho João Pedro.**

Filho te agradeço por você fazer crescer em mim uma vontade de ser cada dia melhor, para poder te dar bons exemplos. Obrigada por me mostrar o que é o amor puro, sem cobranças e sem interesses! Você já é essa pessoa linda e que admiro tanto, apesar de tão pouca idade. Dono de uma personalidade forte e de uma inteligência já perceptível, você vai longe, e eu estarei aqui para ver você brilhar!

---

---



---

---

*"Sempre é assim. A saudade nunca chega quando estamos perto da família, do namorado, dos amigos. A saudade nunca chega na infância, naquela música antiga ou naquela época do primeiro amor.*

*A saudade é um sentimento inimigo dos enamorados, dos amigos, dos apaixonados, dos vividos... Ela chega quando aquele namoro terminou, quando a infância passou, quando aquela música não toca mais na rádio.*

*Saudade é aquele sentimento do momento não vivido, do beijo não dado, do abraço negado... Daquese perfume, daquelas briguinhas, daquelas gargalhadas.*

*Saudade é a palavra vazia, o silêncio calado, a dor consentida.*

*Saudade é um sentimento sentido sem querer, sem perceber já somos tomados por ele. Saudade mata as pessoas, fere a alma, machuca o coração.*

*Mas a saudade, além de nos causar e mostrar a dor da perda, ela nos mostra o quanto aquilo nos faz falta.*

*A saudade é confusa, complicada, dolorida. Certa e incerta. Cheia de caminhos contrários aos do amor. Às vezes dói tanto que parece querer matar, mas às vezes nos causa sensações tão boas que nos fazem chorar.*

*A saudade leva e traz esperanças, amores, intrigas e rancores. Nos mostra que devemos dar valor enquanto temos. Mostra-nos a vida de um ângulo diferente, oculto.*

*A saudade faz parte de um romance, de uma amizade...*

*Mas faz parte da vida.*

*Sem ela, a vida não teria a mínima graça."*

*Mayara Freire*

---

---



---

---

# Agradecimentos

A **Deus**, por ter me dado força e saúde para atingir meus objetivos. O senhor esteve presente nos momentos mais difíceis, sempre me acompanhando e me indicando o melhor caminho.

*Tudo na vida é propriedade do Todo-Poderoso. De nós mesmos, apenas dispomos da própria alma, que nos compete aprimorar para a vida eterna”.*

*(Emmanuel)*

À minha amada avó **Leozanira**, por ser essa pessoa tão meiga e tão forte ao mesmo tempo! Você é um exemplo de pessoa que leva a vida de uma maneira deliciosamente leve! Te amo!

Aos meus irmãos **Bia, Davi e Levi**, obrigada pela família unida que somos! Cada um, com seu jeitinho, tem seu lugar guardado em meu coração! Tenho muito orgulho de cada um de vocês! Além de irmãos vocês são meus melhores amigos! Amo vocês!

*“Junte-se mais com a sua família, mesmo que seja só para uma refeição. E assim você viverá momentos inesquecíveis com quem mais te ama...”*

*“Eles podem não ser o melhor modelo de família, podem não ser a família mais agradável, mais rica, mais inteligente...”*

*“Porém, família não se escolhe, e se pudéssemos escolher, não escolheríamos tão bem assim.”*

*Quelubia Coelho*

---

---



---

---

Às minhas grandes amigas de Fortaleza, **Karine Dantas, Fabíola, Renata Maia, Sarah, Danielle Moura e Roberta**. Obrigada pela amizade verdadeira e pelo incentivo para que realizasse meu sonho! Nossa amizade nunca mudou, apesar da distância! Amo vocês!

Aos meus amigos de curso de Mestrado, **Ana Paula, Dudu, Luciana, Gabi, Rafael, Adriana, Daniel Bayardo, Valéria, Fernando, Paola, Daniel Castro, Buda, Romão e Thiago**, pela troca de conhecimento, experiência, convívio e amizade.

Aos amigos especiais que fiz em Bauru, **Gabi, Fernando, Clá, Aline, Delano, Ana Paula, Renata Louro, Valéria Simões e Renata Cordeiro**, obrigada por fazerem parte da minha vida aqui em Bauru. Com vocês compartilhei meus momentos mais especiais!

Aos amigos de Bauru que são tão especiais, **Karina, Mariana e Natália**, por tornarem a vida em Bauru mais leve e divertida!

Ao aluno de Doutorado **Ronald Zapata**, pela valiosa ajuda para que esse trabalho pudesse ser concluído. Obrigada pelos ensinamentos, paciência e disponibilidade sempre que precisei! Você já é um grande pesquisador e tenho certeza de que será um excelente professor.

*"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na*

*intensidade com que elas acontecem...*

*Por isso existem momentos*

*inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis..."*

*(Fernando Pessoa)*

---

---





---

---

# *Agradecimentos institucionais*

À Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, na pessoa do seu Diretor, **Prof. Dr. José Carlos Pereira**, pela formação de uma comunidade cujo objetivo comum é a excelência.

Aos professores do Departamento de Prótese Dentária da FOB-USP, **Prof. Dr. Accácio Lins do Vale, Prof. Dr. Gerson Bonfante, Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro, Prof. Dr. José Henrique Rubo, Prof. Dr. Milton Carlos Salvador, Prof. Dr. Carlos dos Reis Pereira de Araújo, Prof. Dr. Paulo Martins Ferreira, Prof. Dr. Paulo César Rodrigues Conti, Prof. Dr. Pedro César Garcia de Oliveira, Prof. Dr. Wellington Cardoso Bonachela, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Lúcia Pompéia Fraga de Almeida, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karin Hermana Neppelenbroek, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucimar Falavinha Vieira, Prof. Dr. Renato de Freitas, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Soares, Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto**, por todos os ensinamentos transmitidos e pela contribuição no meu processo de aprendizado.

Aos funcionários do departamento de Prótese, **Déborah, Valquíria, Cláudia, Marcelo e Reivanildo**. Obrigada pela convivência prazerosa.

Aos funcionários do Centro Integrado de Pesquisa, **Rafaela, Márcia, Marcelo, Neusa e Renato**, por estarem sempre prontos a ajudar. Em especial, a você **Rafa**, pois a sua ajuda foi crucial para que essa pesquisa pudesse ser desenvolvida. Não tenho palavras para te agradecer!

Às funcionárias da clínica de pós-graduação, **Hebe e Cleusa**. Obrigada pela amizade e pela prestatividade.

**Ao Centro Integrado de Pesquisa da FOB-USP**, representado pelo **Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto**, pelo empréstimo dos equipamentos para a realização deste trabalho.

À **CAPES**, pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Às funcionárias da pós-graduação, **Giane, Letícia, Meg, Fátima e Leila**.

Aos funcionários da Biblioteca, **Valéria, Rita, Vera, Cybelle, César e Ademir**, pela disponibilidade de sempre.

---

---



---

---

*“Aprendi que se aprende errando*

*Que crescer não significa fazer aniversário*

*Que silêncio é a melhor resposta, quando se houve uma bobagem*

*Que amigos a gente conquista mostrando o que somos*

*Que os verdadeiros amigos sempre ficam com você até o fim*

*Que a maldade se esconde atrás de uma bela face*

*Que não se espera a felicidade chegar, mas se procura por ela*

*Que quando penso saber de tudo ainda não aprendi nada*

*Que amar significa se dar por inteiro*

*Que ouvir uma palavra de carinho faz bem à saúde*

*Que sonhar é preciso*

*Que julgamento alheio não é importante*

*O que realmente importa é a paz interior*

*É finalmente, aprendi que não se pode morrer, para se aprender a viver*

*Aprendi que diplomas na parede não me fazem mais respeitável ou mais sábio.”*

*Charles Chaplin*

---

---



---

---

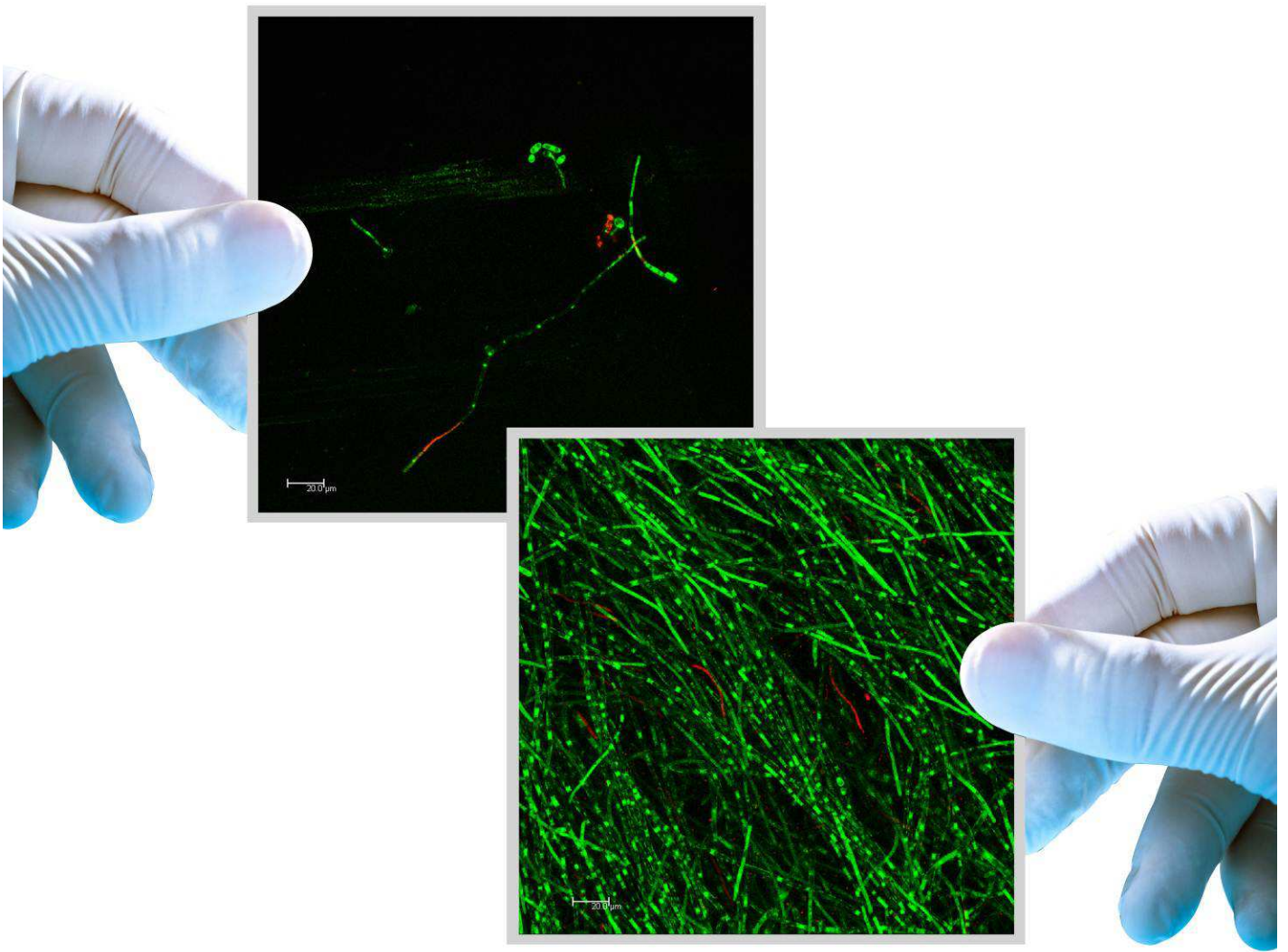
# *Agradecimento Especial*

Ao **Prof. Dr. Vinícius Carvalho Porto**, meu orientador. Agradeço a você pela paciência, dedicação, conhecimentos transmitidos, disponibilidade e amizade. Com seu jeito tranquilo, tem a maturidade de deixar o aluno caminhar livremente, mas nunca sozinho, pois sempre que preciso você está disponível para atender os seus alunos, seja na pesquisa ou seja na clínica. Obrigada por me mostrar o verdadeiro sentido de ser professor, pois não é a toa que você é tão querido entre os alunos! Admiro você por sua determinação e persistência, características que vão fazer com que você vá cada vez mais longe! Obrigada por tudo!

---

---





*Resumo*





---

---

## RESUMO

A proposta desse trabalho foi verificar através de microscopia confocal de varredura a laser, se a utilização de uma resina fotopolimerizável de baixa viscosidade (Biscover®) e do etil-cianoacrilato (Super Bonder®) seriam eficientes em prevenir ou reduzir a formação de biofilme de *Candida albicans*. Cinquenta e seis corpos de prova em resina acrílica para reembasamento (New Truliner) foram divididos aleatoriamente em 7 grupos: G1 (C)- Controle; G2 (SBAE)- Recebeu uma camada de Super Bonder® em sua superfície antes de esterilizar; G3 (SBDE)- Recebeu uma camada de Super Bonder® em sua superfície depois de esterilizar; G4 (SB3G)- 3 gotas de Super Bonder® incorporadas na resina; G5 (SB4G)- 4 gotas de Super Bonder® incorporadas na resina; G6 (BCDE)- Recebeu uma camada de Biscover® em sua superfície depois de esterilizar e G7 (BCAE) – Recebeu uma camada de Biscover® em sua superfície antes de esterilizar. Todos os corpos de prova foram inoculados com *Candida albicans* para formação de biofilme. Os biofilmes remanescentes sobre os corpos de prova foram corados através dos fluorocromos SYTO-9 e iodeto de propídeo para análise no microscópio confocal. Os dados foram analisados através dos testes estatísticos de Kruskal-Wallis e Dunn, a um nível de significância de 5%. Os resultados obtidos pelo microscópio confocal mostraram que, de todos os corpos de prova modificados, os que receberam a Super Bonder® em sua superfície, G2(SBAE) e G3(SBDE) foram os únicos que significativamente reduziram a formação de biofilme de *Candida albicans*. Através da análise das imagens geradas pelo microscópio confocal, pôde-se observar que nos grupos G2(SBAE) e G3(SBDE) os campos apresentaram um reduzido número de células fúngicas e a maioria se encontrava na forma de levedura (inócua), enquanto que, para os demais grupos, além de observado um elevado número de células, a maioria destas se apresentava em forma de hifa (patogênica). Desse modo, a partir das condições experimentais desse estudo pôde-se concluir que as modificações do material testado com a Super Bonder® aplicada em sua superfície podem ser uma abordagem potencialmente útil para reduzir ou controlar a formação do biofilme em resinas acrílicas.

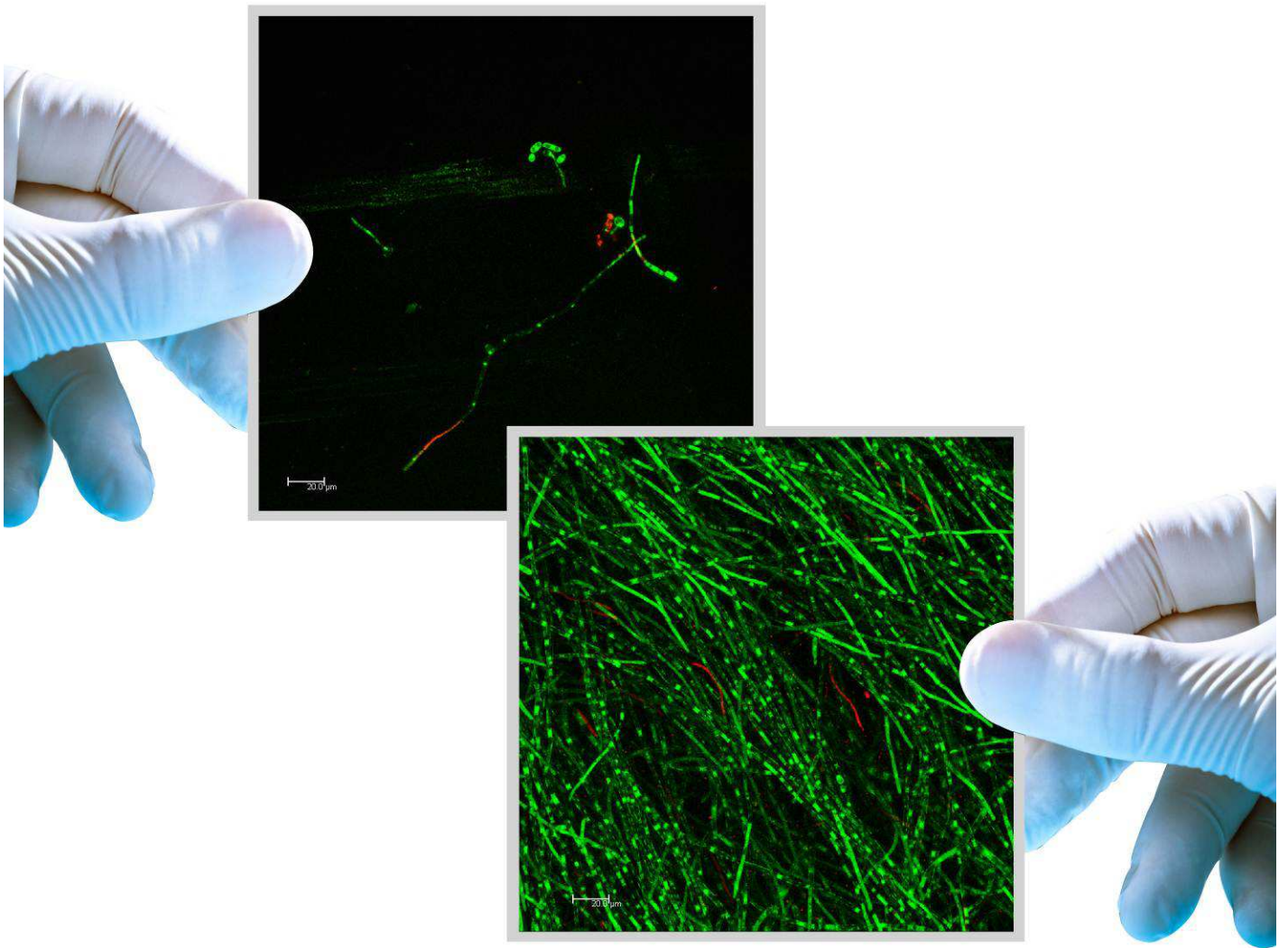
**Palavras-chave<sup>#</sup>:** Estomatite sob Prótese; Reembasadores de Dentadura; *Candida albicans*; Microscopia confocal; cianoacrilatos

# Em acordo com os descritores em Ciências da Saúde (DeCS) disponível no domínio <http://decs.bvs.br>

---

---





*Abstract*



---

---

## ABSTRACT

### **Effect of ethyl-cyanoacrylate (Super Bonder®) and a liquid polish of low viscosity (Biscover®) on *Candida albicans* biofilms on denture relin resin.**

The purpose of this study was to verify, using the confocal laser scanning microscopy (CLSM), if the use of a photoactivated resin of low viscosity (Biscover®) and an ethyl-cyanoacrylate (Super Bonder®) could be efficient in the prevention or reduction of *Candida albicans* biofilms. Fifty six relin resin specimens (New Truliner) were fabricated and randomly divided into 7 groups: G1 (C)- Control; G2 (SBAE)- a Super Bonder® layer was applied on the surface before sterilization; G3 (SBDE)- the surface received a Super Bonder® layer after sterilization; G4 (SB3G)- 3 drops of Super Bonder® were incorporated in the structure of the resin; G5 (SB4G)- 4 drops of Super Bonder® were incorporated in the structure of the resin; G6 (BCDE)- a Biscover® layer was applied on the surface after sterilization; G7 (BCAE) – the surface received a Biscover® layer before sterilization. All the specimens were inoculated with *Candida albicans* for biofilm development. The remaining biofilms on the specimens were stained with fluorochromes SYTO-9 and propidium iodide to be analyzed by CLSM. The data were statistically analyzed using the Kruskal-Wallis and Dunn test, considering a significance level of 5%. The data obtained by CLSM revealed that of all specimens modified, those that received a Super Bonder® layer on their surface, G2(SBAE) e G3(SBDE), presented the better results, reducing *Candida albicans* biofilm formation. Analyzing the images produced by CLSM it was possible to see that groups G2(SBAE) e G3(SBDE) showed a reduced number of cells, and they were in a less pathogenic form (Yeast), while the other groups showed a high number of cells in a more pathogenic form (Hyphae). Considering the experimental conditions of this study we can conclude that the material modifications done with Super Bonder® on the surface could be an interesting way to prevent or control biofilm formation on acrylic resin.

**Key-words<sup>#</sup>:** Denture Stomatitis; Denture Liners; *Candida albicans*; confocal microscopy; Cyanoacrylates.

<sup>#</sup> In accordance with Health Sciences Descriptors (DeCS) available at <http://decs.bvs.br/>

---

---



---

---

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Distribuição dos grupos de acordo com a modificação realizada na resina acrílica.....	51
<b>Figura 2</b>	Confecção dos corpos de prova. Matriz metálica utilizada (A). Resina acrílica para reembasamento (New Truliner) (B). Preenchimento da matriz com a resina (C) .....	52
<b>Figura 3</b>	Lixamento dos corpos de prova na politriz. (A) Corpo de prova após lixado com sua superfície rugosa identificada e voltada para cima. (B) Polidor líquido Biscover® (C) Adesivo Super Bonder® (D) Corpo de prova após voltar da esterilização (E).....	54
<b>Figura 4</b>	Seqüência padrão de análise dos 6 campos dos corpos-de-prova no microscópio .....	57
<b>Figura 5</b>	Exemplo de como foi realizada a organização dos valores de altura máxima do biofilme de cada campo em $\mu\text{m}$ . .....	58
<b>Figura 6</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 1.....	63
<b>Figura 7</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 1.....	63
<b>Figura 8</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 2.....	64
<b>Figura 9</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 2.....	64
<b>Figura 10</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 3.....	64
<b>Figura 11</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 3.....	64
<b>Figura 12</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 4.....	65
<b>Figura 13</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 4.....	65
<b>Figura 14</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 5.....	65
<b>Figura 15</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 5.....	65
<b>Figura 16</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 6.....	66
<b>Figura 17</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 6.....	66
<b>Figura 18</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 7.....	66
<b>Figura 19</b>	Sobreposição das imagens de um campo do grupo 7.....	66

---

---





---

---

<b>Figura 20</b>	Box plots dos valores de Biovolume total em $\mu\text{m}^3$ indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si. ....	69
<b>Figura 21</b>	Box plots dos valores de Biovolume verde em $\mu\text{m}^3$ indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si. ....	71
<b>Figura 22</b>	Box plots dos valores de Cobertura do substrato em % indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si. ....	73
<b>Figura 23</b>	Gráfico dos valores de Porcentagem de células verdes % indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si. ....	75

---

---



---

---

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Valores de Mínimo, Mediana, Máximo e Média do Biovolume total.....	67
<b>Tabela 2</b>	Comparações entre os valores de Biovolume total em $\mu\text{m}^3$ (células viáveis e não viáveis) para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.....	68
<b>Tabela 3</b>	Mínimo, Mediana, Máximo e Média dos valores de Biovolume verde.....	69
<b>Tabela 4</b>	Comparações entre os valores de Biovolume verde em $\mu\text{m}^3$ para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.....	70
<b>Tabela 5</b>	Mínimo, Mediana, Máximo e Média dos valores de Cobertura do substrato em %.....	71
<b>Tabela 6</b>	Comparações entre os valores de Cobertura do Substrato em % para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.....	72
<b>Tabela 7</b>	Mínimo, Mediana, Máximo e Média dos valores de Porcentagem de células verdes %.....	73
<b>Tabela 8</b>	Comparações entre os valores de Porcentagem de Células Verdes % para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.....	74

---

---



---

---

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>19</b>
1.1	<i>Candida albicans</i> .....	22
1.2	Estomatite por prótese total.....	23
1.3	Formação do biofilme sobre a prótese total .....	25
1.4	Fatores relacionados à adesão e penetração da <i>C. albicans</i> .....	27
1.5	Controle do biofilme sobre a prótese total .....	28
1.6	Cianoacrilatos .....	33
1.7	Técnicas empregadas na análise de biofilmes .....	41
<b>2</b>	<b>PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>49</b>
3.1	Confecção dos corpos de prova.....	51
3.2	Lixamento dos bastões de resina acrílica, seccionamento, avaliação da rugosidade superficial e esterilização dos corpos de prova .....	52
3.3	Inoculação dos corpos de prova .....	54
3.3.1	Preparo do inóculo de <i>C. albicans</i> .....	54
3.3.1.1	Obtenção da pré cultura .....	54
3.3.1.2	Purificação das células fúngicas .....	55
3.3.1.3	Contagem da concentração do inóculo .....	55
3.4	Formação do biofilme .....	55
3.5	Análise dos corpos de prova através de microscopia confocal. ....	56
3.5.1	Processamento dos corpos de prova para a microscopia confocal.....	56
3.5.2	Análise dos corpos de prova no microscópio confocal.....	57
3.6	Análise estatística .....	59
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>61</b>
4.1	Análise qualitativa do efeito da Super Bonder® e do Biscover® sobre o acúmulo de biofilme em resina acrílica autopolimerizável para reembasamento (New Truliner) através da microscopia confocal.....	63
4.1.1	Controle / G1(C).....	63
4.1.2	Super Bonder® pincelada na superfície antes da esterilização dos corpos de prova / G2 (SBAE) .....	64

---

---



---

---

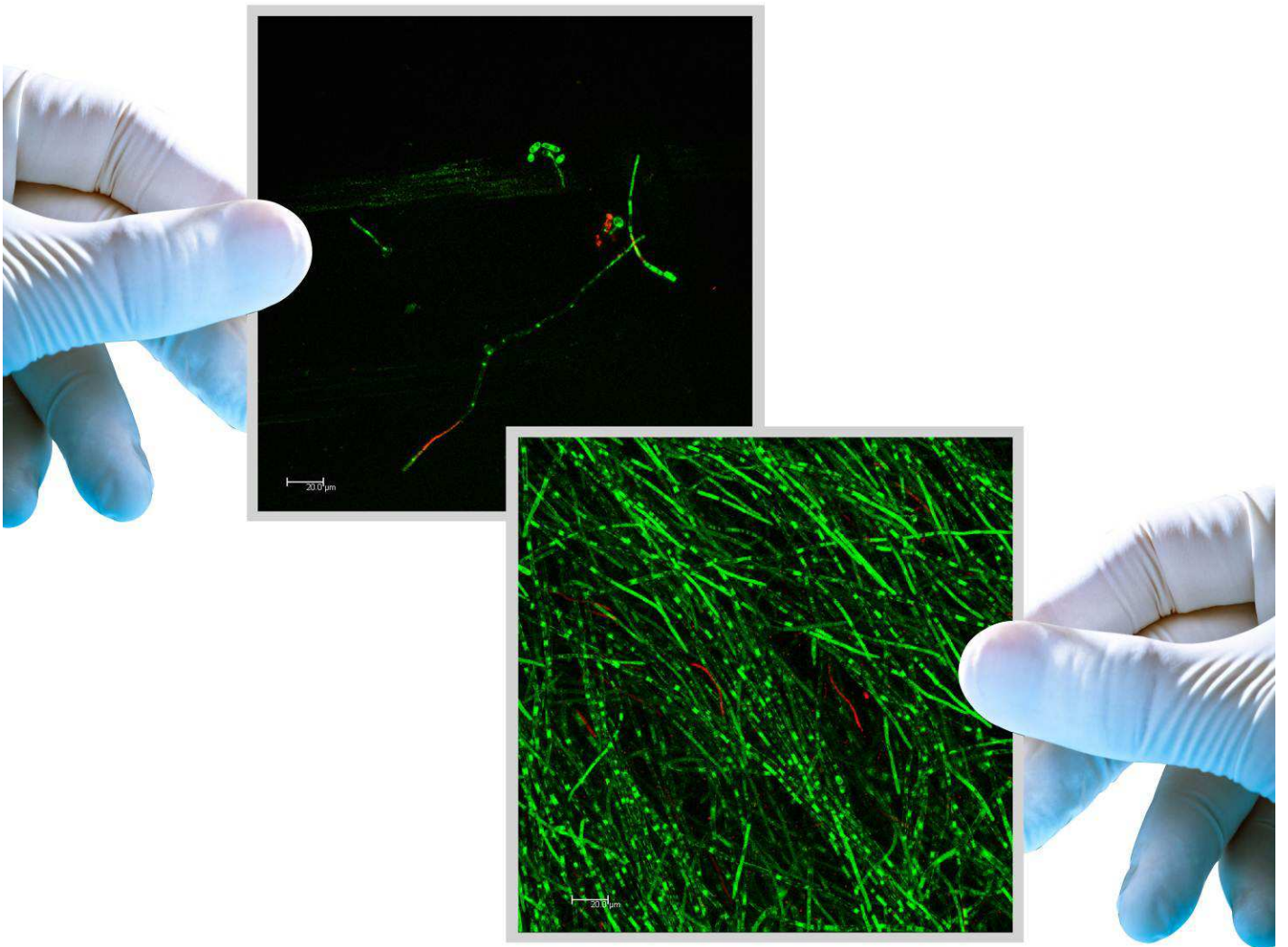
4.1.3	Super Bonder® pincelada na superfície depois da esterilização dos corpos de prova / G3(SBDE) .....	64
4.1.4	3 Gotas de Super Bonder® incorporadas na resina / G4(SB3G) .....	65
4.1.5	4 Gotas de Super Bonder® incorporadas na resina / G5(SB4G) .....	65
4.1.6	Biscover® pincelado na superfície após a esterilização dos corpos de prova / G6(BCDE) .....	66
4.1.7	Biscover® pincelado na superfície antes da esterilização dos corpos de prova / G7(BCAE) .....	66
4.2	Análise quantitativa dos dados .....	67
4.2.1	Biovolume Total ( $\mu\text{m}^3$ ) .....	67
4.2.2	Biovolume verde ( $\mu\text{m}^3$ ) .....	69
4.2.3	Cobertura do substrato % .....	71
4.2.4	Porcentagem de células verdes .....	73
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>77</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>87</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>91</b>

---

---







# *1 Introdução e Síntese Bibliográfica*

---

---



## 1 INTRODUÇÃO E SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA

Apesar de toda a preocupação dos cirurgiões dentistas em manter a saúde oral dos pacientes através da preservação dos dentes remanescentes e das diversas técnicas restauradoras existentes na Odontologia, ainda é elevado o número de usuários de próteses totais removíveis. Esses aparelhos constituem-se de dentes artificiais de resina acrílica, os quais são fixados a uma base do mesmo material.

A limpeza da prótese total é geralmente pobre e parece ser negligenciada tanto pelos pacientes quanto pelos dentistas, já que freqüentemente ambos desconhecem um protocolo bem definido de limpeza e desinfecção. Esse fato é preocupante, pois a prótese total apresenta uma superfície externa polida mecanicamente e outra interna irregular e que não recebe polimento, ambas expostas ao meio bucal e propensas ao acúmulo de alimentos e adesão de microorganismos (LINN et al., 1999). Alguns estudos observaram que as áreas irregulares e rugosas das próteses totais acumulam mais biofilme e, por isso, os pacientes precisam dispor de uma maior atenção durante a higienização dessas áreas (KENG; LIM, 1996; PARANHOS et al., 2007; VERRAN; MARYAN, 1997). Além disso, a superfície da prótese geralmente apresenta microporosidades que facilitam o acúmulo de microorganismos difíceis de serem removidos através de métodos mecânicos (BAYSAN; WHILEY; WRIGHT, 1998; BUDTZ-JORGENSEN, 1979).

Vale ressaltar que a grande maioria dos usuários de próteses totais são pessoas idosas que podem ter a qualidade da sua higiene comprometida devido à diminuição da sua atenção e coordenação motora. Nesses casos a superfície interna da prótese é considerada uma área crítica para o desenvolvimento de processos patológicos, por estar em íntimo contato com os tecidos de suporte e sua topografia promover um aumento da área e nichos de retenção que favorecem a aderência de microorganismos e a formação de biofilme (SHAY, 2002).

Assim, atenção deve ser dada à importância do controle do biofilme sobre a prótese total (NIKAWA; HAMADA; YAMAMOTO, 1998; RADFORD, 1999).

---

### 1.1 *Candida albicans*

O fungo do gênero *Candida* pode ser encontrado em aproximadamente 25 a 50% dos indivíduos saudáveis (AKPAN; MORGAN, 2002; EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003) como um organismo comensal, não causando danos aparentes nem induzindo inflamação nos tecidos adjacentes (AKPAN; MORGAN, 2002; DONGARI-BAGTZOGLU; FIDEL, 2005; EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003). Contudo, sob certas condições predisponentes, o fungo pode multiplicar-se, tornando-se patogênico, e penetrar nos tecidos do hospedeiro causando inflamação e destruição tecidual (DONGARI-BAGTZOGLU; FIDEL, 2005; HUBE, 2004; KOZIOL-MONTEWKA et al., 2006)

Mais de 200 espécies de *Candida* já foram descritas, mas somente 10% estão relacionadas a doenças nos seres humanos (EGGIMANN; GARBINO; PITTET, 2003). As espécies mais comuns são *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. pseudotropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. Krusei* (AKPAN; MORGAN, 2002; FARAH; ASHMAN; CHALLACOMBE, 2000), *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* e *C. stellatoidea* (AKPAN; MORGAN, 2002.)

A *C. albicans* pode ser classificada como um fungo assexual diplóide, (RADFORD; CHALLACOMBE; WALTER, 1999) de forma arredondada ou ovalada, de 3 a 5µm, Gram positivo e com metabolismo principalmente aeróbio (UREÑA, 1995). Pode-se apresentar na fase de levedura (inócua) ou na fase de hifa ou micelial (patogênica) (BUNETEL; BONNAURE-MALLET, 1996; ROGERS; BALISH, 1980).

Alguns fatores de patogenicidade da *C. albicans* possibilitam o desenvolvimento de doenças com maior frequência do que outras espécies de *Candida*. Primeiramente, encontra-se na forma de levedura iniciando a lesão, mas variações nutricionais e ambientais modulam, com o tempo, sua conversão para a fase de hifa, aumentando a sua virulência (UREÑA, 1995).

Infecções por *C. albicans* são comumente notadas em pacientes portadores de próteses totais, pacientes imunodeprimidos, que se submeteram à antibioticoterapia ou usuários de medicamentos que induzam à xerostomia (TOMMASI; BIRMAN, 2002).

---

---

## 1.2 Estomatite por prótese total

A estomatite por prótese total (EP) é definida como um processo inflamatório da mucosa oral associado à utilização de prótese total removível. A etiologia da estomatite por prótese total mostra-se extremamente variável, conceitualmente classificada como uma doença multifatorial, podendo estar associada ao uso da prótese, à microbiota, às condições sistêmicas do hospedeiro e à presença do fungo *C. albicans*. Entre esses fatores, a maioria dos estudos afirma que a presença desse fungo na saliva, na mucosa bucal e/ou na superfície interna da prótese removível representa o principal agente etiológico para essa patologia (ARENDORF; WALKER, 1987; NIKAWA; HAMADA; YAMAMOTO, 1998; BARBEAU et al., 2003; BUDTZ-JORGENSEN, 1970; CEBALLOS; GONZALEZ-MOLES; URQUIA, 1990; FOTOS; HELLSTEIN, 1992; OLSEN, 1974; CAMPOS et al., 2008; ZISSIS; YANNIKAKIS; HARRISON, 2006).

A literatura reporta uma grande variedade de terminologias para se referir a esta doença: estomatite por dentadura ou estomatite protética (CROCKETT; O'GRADY; READE, 1992; KULAK-OZKAN; KAZAZOGLU; ARIKAN, 2002), candidíase eritematosa (CROCKETT; O'GRADY; READE, 1992), boca irritada por dentadura (BUDTZ-JORGENSEN, 1978), estomatite por dentadura associada à *Candida* (MAZA et al., 2002), estomatite induzida por dentadura (NIKAWA; HAMADA; YAMAMOTO, 1998), candidose oral associada ao uso de dentadura (BUDTZ-JORGENSEN et al., 2000); candidíase atrófica crônica (BUDTZ-JORGENSEN, 1978) e estomatite relacionada à dentadura (BARBEAU et al., 2003). Entretanto, optamos por utilizar o termo estomatite por prótese total por ser o mais utilizado (ARENDORF; WALKER, 1987).

Essa infecção afeta as membranas mucosas da cavidade oral como as superfícies da língua, palato, bochechas e lábios (ARKELL; SHINNICK, 2003), sendo observada principalmente na mucosa palatina que suporta as próteses totais (WEBB et al., 1998). As pessoas mais idosas apresentam um risco maior para essa doença, pois, além de estarem mais suscetíveis a alterações sistêmicas e conseqüente uso de medicamentos que podem alterar a função das glândulas salivares, com distúrbio do equilíbrio da microbiota oral, elas também possuem maior probabilidade para o uso de próteses totais (BUDTZ-JORGENSEN et al., 1996).

---

Os fatores relacionados à prótese incluem trauma geralmente decorrente de próteses antigas, limpeza inadequada, uso noturno, presença de asperezas e microporos na superfície acrílica da mesma, além de alterações no pH do biofilme microbiano aderido à prótese. A ausência de higiene bucal e a presença da prótese promovem um ambiente favorável à proliferação de microorganismos, principalmente entre a mucosa de suporte e a própria superfície da prótese (FIGUEIRAL et al., 2007). Destaca-se que outros microorganismos como por exemplo a *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. Krusei*, *C. pseudotropicalis*, *C. dubliniensis* e *C. guilliermondi* também podem colaborar para a patogênese da doença, no entanto, o fungo *C. albicans* é o mais frequentemente associado (ARENDORF; WALKER, 1987; BARBEAU et al., 2003; DAR-ODEH; SHEHABI, 2003; EMAMI et al., 2007; FARAH; ASHMAN; CHALLACOMBE, 2000; FIGUEIRAL et al., 2007; FREITAS, 2008; IACOPINO; WATHEN, 1992; PIRES et al., 2002; RAMAGE et al., 2004; WILSON, 1998; ZISSIS; YANNIKAKIS; HARRISON, 2006). Os fatores de risco para a instalação da EP relacionados às condições sistêmicas do hospedeiro incluem xerostomia, hipersensibilidade ao material protético, diabetes (DOROCCA-BOBKOWSKA; BUDTZ-JORGENSEN; WLOCH, 1996) e outras desordens endócrinas (hipoadrenalismo, hipotireoidismo e hipoparatiroidismo), alterações imunológicas, uso prolongado de esteróides, quimioterapia e radioterapia (GONSALVES; WRIGHTSON; HENRY, 2008), uso de drogas psicotrópicas e hipossalivatórias, assim como deficiência nutricional de vitamina B12, ácido fólico e ferro (ARENDORF; WALKER, 1987; BARBEAU et al., 2003; DAR-ODEH; SHEHABI, 2003; EMAMI et al., 2007; FARAH; ASHMAN; CHALLACOMBE, 2000; FIGUEIRAL et al., 2007; FREITAS, 2008; IACOPINO; WATHEN, 1992; PIRES et al., 2002; RAMAGE et al., 2004; WILSON, 1998; ZISSIS; YANNIKAKIS; HARRISON, 2006).

A ocorrência isolada desses fatores não assegura o surgimento dessa infecção, sendo necessária a associação entre eles. Vale ressaltar o estudo de Barbeau et al. (2003) a respeito da controversa relação entre a *Candida* spp. e os traumatismos protéticos, como agentes etiológicos dessa patologia. Esses reavaliaram a classificação clássica das estomatites por próteses totais descritas por Newton (1962), a qual se baseia na severidade do eritema na mucosa do palato bucal. Segundo a nova classificação proposta por esses autores, na estomatite por próteses totais do tipo 1 não há evidências de inflamação da mucosa do palato bucal (sem estomatite), na do tipo 2 há apenas a presença de petéquias dispersas através de toda ou uma restrita parte da mucosa palatal em contato com a prótese total (Newton 1), na do

---

tipo 3 há uma difusão do eritema pelo palato, porém sem hiperplasia papilar (Newton 2) e na do tipo 4 há uma difusão do eritema pelo palato com hiperplasia papilar (Newton 3). Como conclusão, os autores afirmaram que no estágio inicial (Tipo 2), a inflamação local causada pela presença da prótese total não é proveniente de infecções microbianas, pois a quantidade e número de colônias de leveduras e de placa microbiana na prótese total é baixa. Além disso, esses autores afirmaram que a presença de *Candida* spp. em estomatite por prótese total é provavelmente ligada a inflamações extensas, evidenciada nos estágios mais avançados (Tipo 3 e 4). Os autores levantaram a hipótese de que a colonização das próteses totais ou da mucosa bucal por *Candida* spp. pode ser secundária ao processo de inflamação, onde fatores inflamatórios não conhecidos favoreceriam o estabelecimento inicial desse fungo.

Apesar da infecção por *Candida* spp. ser considerada o principal fator etiológico da estomatite protética, a presença de outros microorganismos também pode estar secundariamente envolvida com a patogenia dessa lesão (BAENA-MONROY et al., 2005; KULAK et al., 1997; LAMFON et al., 2005; SATO et al., 1997). Tendo em vista que certas espécies de bactérias podem estar envolvidas na patogenia da estomatite protética, tem sido sugerido que o tratamento dessa patologia deve, ao mesmo tempo, eliminar as formas miceliais de *Candida* spp. e inibir o crescimento bacteriano nas superfícies internas das próteses (KULAK et al., 1997).

### **1.3 Formação do biofilme sobre a prótese total**

O biofilme microbiano presente nas próteses com base de resina acrílica é considerado um biofilme complexo, formado por leveduras, bactérias e células epiteliais descamativas (SATO et al., 1997). As formas mais comuns de bactérias isoladas de biofilmes presentes nas próteses são os bacilos e os cocos, especialmente as espécies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Lactobacillus* e *Actinomyces* (BAENA-MONROY et al., 2005; SATO et al., 1997). Tem sido sugerido que na EP as bactérias possivelmente favorecem a adesão de blastóporos (comensais) às superfícies internas das próteses por coagregação (SATO et al., 1997), o que é ainda mais significativo na presença de dieta rica em carboidratos (NIKAWA, 1997).

---

À semelhança de outros microorganismos presentes na cavidade bucal, a *C. albicans* possui a habilidade de adesão às resinas das próteses totais, quer seja diretamente ou através de uma camada intermediária formada por placa bacteriana (CHANDRA et al., 2001a).

Após a adesão à superfície, inicia-se o processo de formação do biofilme. Em contraste à vasta descrição dos biofilmes bacterianos, pouca atenção era dada aos biofilmes formados exclusivamente por fungos. Porém, devido às respostas inflamatórias que podem ocorrer nas mucosas bucais, decorrente do contato com as próteses totais, essa estrutura complexa tornou-se alvo de interesse de diversos autores (CHANDRA et al., 2001 a; CHANDRA; ZHOU; GHANNOUM, 2005; DONLAN; COSTERTON, 2002; HAWSER; DOUGLAS, 1994; KUHN et al., 2002).

Os biofilmes são definidos como uma comunidade sésil caracterizada por células que formam microcolônias e que estão irreversivelmente aderidas a um substrato, a uma interface, ou ainda uma às outras, embebidas numa complexa matriz extracelular de substâncias poliméricas, exibindo um fenótipo alterado no que diz respeito à taxa de crescimento microbiano e à transcrição genética (DONLAN; COSTERTON, 2002). Os biofilmes representam o tipo de crescimento microbiano predominante na natureza e são cruciais no desenvolvimento de infecções, uma vez que servem de nicho aos agentes patogênicos e estão associados a altos níveis de resistência a agentes antimicrobianos (DONLAN, 2001; KUHN et al., 2002).

Os detalhes da formação do biofilme de *C. albicans* em lâminas de polimetilmetacrilato foram descritos na literatura (CHANDRA et al., 2001b). O processo de formação do biofilme desse fungo ocorre em basicamente três fases distintas: a) fase inicial (0 a 11 horas); b) fase intermediária (aproximadamente 12 a 30 horas) e c) fase de maturação (aproximadamente 38 a 72 horas). Inicialmente, as células leveduriformes de *C. albicans* se aderem à superfície da lâmina, formando microcolônias. Nas primeiras 11 horas, as comunidades de *C. albicans* aparecem como uma camada de células, devido ao crescimento e agregação das colônias. Já o desenvolvimento da fase intermediária é caracterizado pela emergência e predominância de substância não celular (polimérica), a qual se assemelha a uma “névoa” que forma um filme e cobre as microcolônias do fungo. Durante a fase de maturação, a quantidade de substância polimérica extracelular aumenta com o tempo de incubação e as comunidades de *C. albicans* são completamente cobertas por essa substância (CHANDRA et al., 2001b).

---

---



Segundo Vasilas et al. (1992), um fator que pode beneficiar a proliferação de biofilmes de *C. albicans* na superfície da prótese total são as irregularidades presentes nesta superfície. Quando a resina acrílica apresenta rugosidade superficial acima de 0,02  $\mu\text{m}$ , sua superfície torna-se passível de colonização (BOLLEN; LAMBRECHTS; QUIRYNEN, 1997), pois o crescimento em forma micelial da *Candida* spp. permite que esse fungo se desenvolva e se aloje no interior das ranhuras formadas, onde estará livre de forças externas de remoção, como o efeito autolimpante da saliva e da escovação, proporcionando um reservatório de fungos para uma futura reinfecção (SAMARANAYAKE; MCCOURTIE; MACFARLANE, 1980). Além disso, as superfícies rugosas proporcionam colonização e maturação mais velozes da placa microbiana sobre a prótese (QUIRYNEN; BOLLEN, 1995).

#### **1.4 Fatores relacionados à adesão e penetração da *C. albicans***

Uma vez na boca, bactérias e fungos do biofilme microbiano, dentre elas a *C. albicans* encontram diversos locais de adesão como as células epiteliais da mucosa, da língua, ou as superfícies dos dentes, das próteses fixas e/ou removíveis e de outros microorganismos que já colonizam essas superfícies, promovendo ancoragem para hifas e permitindo seu crescimento através do tecido epitelial (VITKOV et al., 2002).

A adesão desse fungo à superfície de células epiteliais mucosas ou superfícies inertes é um evento primário necessário para a sua colonização e desenvolvimento da patogênese (BURFORD-MASON; WEBER; WILLOUGHBY, 1988; NIKAWA, et al., 1991). Para iniciar a doença, a *C. albicans* deve aderir às células epiteliais da mucosa bucal e, subsequentemente, o fungo invade e destrói essas células (FARAH; ASHMAN; CHALLACOMBE, 2000).

A *C. albicans* é um patógeno versátil e bem adaptado. O dimorfismo representa a habilidade desse fungo de se desenvolver em diferentes formas morfológicas: leveduras e filamentosas (hifas ou pseudohifas). Essa última forma é a mais virulenta e invasiva devido à capacidade de aderir ao tecido epitelial e penetrar nas células do hospedeiro (HOWLETT; SQUIER, 1980; VITKOV et al., 2002).

---

Durante a penetração da *C. albicans* na mucosa epitelial, ocorre uma deformação dos queratinócitos do hospedeiro (VITKOV et al., 2002), sugerindo que a hifa produz uma força mecânica que auxilia sua endocitose. Para atravessar a barreira endotelial, o fungo induz sua endocitose via célula endotelial, destruindo a célula do hospedeiro (KUMAMOTO; VINCES, 2005a).

### 1.5 Controle do biofilme sobre a prótese total

De acordo com Budtz-Jørgensen (1990), o tratamento para a estomatite protética deveria envolver cuidados com a higiene das próteses, remoção das mesmas da cavidade bucal durante a noite, imersão em clorexidina e terapia antifúngica tópica com nistatina, anfotericina B ou miconazol. A terapia com antifúngico sistêmico (fluconazol) deveria ser indicada apenas para os pacientes com imunossupressão.

Apesar da importância de uma higiene apropriada da prótese total, diversas pesquisas indicam que a maioria da população usuária dessas próteses falha em mantê-las limpas (BUDTZ-JORGENSEN; STENDERUP; GRABOWSKI, 1975; COLLIS; STAFFORD, 1994; HOAD-REDDICK; GRANT; GRIFFITHS, 1990). A efetividade da escovação, isoladamente, não é eficiente (CHAN et al., 1991; KULAK; ARIKAN; KAZAZOGLU, 1997). Provavelmente a remoção mecânica dos microorganismos pela escovação é dificultada pelas irregularidades e porosidades presentes na resina acrílica (CHAU et al., 1995; DAVENPORT, 1972; KULAK; ARIKAN; KAZAZOGLU, 1997). Outro fator agravante é que os pacientes idosos freqüentemente apresentam capacidade visual reduzida e destreza manual limitada, o que resulta em uma higienização menos eficiente (BUDTZ-JORGENSEN, 1974; HOAD-REDDICK; GRANT; GRIFFITHS, 1990).

Vários estudos demonstraram que a estomatite por prótese total está associada ao crescimento de *Candida* spp no biofilme da superfície interna da prótese, e não na mucosa correspondente (ARENDORF; WALKER, 1979; BANTING; HILL, 2001; DAVENPORT, 1970; MAHONEN; VIRTANEN; LARMAS, 1998). Por isso, o tratamento deveria ser direcionado principalmente à prótese, e não somente à mucosa (DAVENPORT, 1970), uma vez que as colônias de *Candida* spp presentes nas superfícies de resina acrílica podem causar reinfecção da mucosa do paciente (DAVENPORT, 1972).

---

---

Parece lógico afirmar que a rugosidade superficial é extremamente crítica para a prótese total, visto que, segundo Phillips (1986), sua superfície interna ou área basal convencionalmente não sofre processos de acabamento e polimento. Dessa maneira, essa região deve apresentar valores de rugosidade superficial bem superiores a  $0,02\ \mu\text{m}$ , tornando-se passível de adesão microbiana (BOLLEN; LAMBRECHTS; QUYRINEN, 1997). Como agravante, de acordo com Davenport (1972), a abrasão provocada pela higienização através da escova dental, os ajustes clínicos periódicos com fresas e a deterioração do acrílico por substâncias como água e soluções higienizadoras com o decorrer do tempo, são fatores que proporcionam a formação de irregularidades na resina acrílica de próteses totais compatíveis com o diâmetro de  $1\ \mu\text{m}$  dos cocos e  $5\ \mu\text{m}$  dos fungos (VAN REENEN, 1973), favorecendo o acúmulo e a penetração desses patógenos no interior da prótese.

Idealmente, a remoção do biofilme somada à redução da viabilidade dos microorganismos que o formam é sempre pretendida no controle do biofilme sobre a prótese total, pois um biofilme residual composto por células mortas pode ainda atuar como uma fonte de endotoxinas, permitindo a sua rápida recolonização e provendo proteção para novos patógenos (MEILLER et al., 1999; CHEN; STEWART, 2000; LIAQAT; SABRI, 2008).

Uma das maneiras de se controlar o biofilme em próteses é a aplicação de polidores líquidos (CHANDRA et al., 2001). Segundo Davidi et al. (2008), o ato de cobrir restaurações provisórias de polimetil metacrilato (PMMA) com adesivo resinoso ou polidor líquido reduziu de maneira significativa a formação inicial de biofilme in vivo sobre as restaurações. O polimento líquido previne a formação de biofilme através da prevenção de adsorção de proteína.

Vários produtos estão disponíveis no mercado, como o Fortify® (Bisco Inc, Schaumburg, IL, USA.), o Optiguard® (Kerr, Corporation), o Protect-it® (Jeneric Pentron, INC) e o Biscover® (Bisco Inc, Schaumburg, IL, USA). Todos eles são materiais resinosos que apresentam baixa viscosidade, alto escoamento e facilidade de aplicação.

Primeiramente, os polidores líquidos foram desenvolvidos para restaurações provisórias. A aplicação deles nessas restaurações resulta em uma adesão bacteriana significativamente menor (DAVIDI et al, 2007). Alguns polidores líquidos têm sido utilizados em próteses totais. De acordo com os fabricantes, um polimento líquido poderia tornar a superfície da resina acrílica mais lisa, diminuindo o acúmulo de restos de alimentos e a adesão de placa, promovendo condições de higiene oral melhoradas. (SESMA et al., 2005).

---

Budtz-Jorgensen e Kaaber (1986), estudaram *in vivo* um sistema de polimento líquido aplicado nas superfícies internas das próteses totais e observaram uma diminuição no acúmulo de biofilme nessas superfícies durante a primeira semana de utilização. Ao final de um mês os pacientes relataram facilidade durante a limpeza e escovação da superfície aplicada, sendo também observada uma redução nos quadros de estomatite induzida por prótese total. Apesar de observada eficiência do polimento líquido, esse trabalho possuiu um curto período de avaliação.

Sesma et al. (2005) avaliaram *in vivo* a eficácia do polidor líquido fotopolimerizável (Palaseal, Heraeus/Kulzer, Wehrheim, Germany) em modificar a colonização de placa das dentaduras. Os achados desse experimento clínico mostraram que o polimento líquido da superfície interna da dentadura não preveniu a colonização bacteriana, mas favoreceu a remoção de placa enquanto a camada de polimento líquido permaneceu intacta. Após três meses, fraturas na camada de polimento líquido criaram áreas microrretentivas que aumentaram o acúmulo de placa.

Com a evolução dos compósitos e entre eles os polidores líquidos, foram retomadas as investigações científicas avaliando essas substâncias sobre as superfícies das próteses dentárias, para minimizar o acúmulo de biofilme (BARGHI; ALEXANDER, 2003; DICKINSON; LEINFELDER, 1993; ROEDER; TATE; POWERS, 2000; DAVIDI et al., 2007). Davidi et al. (2008) estudaram superfícies de resinas acrílicas tratadas com esse tipo de polidor líquido, analisando a sua hidrofobicidade, rugosidade superficial e adsorção de proteínas salivares e constataram que os valores encontrados para essas propriedades eram similares aos de uma superfície de PMMA polida, com exceção da adsorção de proteínas que apresentou valores insignificantes nas superfícies cobertas com o polimento líquido.

Essa nova geração de polidores líquidos, dentre eles o Biscovers®, mostra-se como uma alternativa interessante no tratamento de superfícies acrílicas, selando-a com uma resina fluida fotopolimerizável que não possui inibição por oxigênio, resultando numa película de 10 a 20µm altamente polida, brilhosa e resistente ao desgaste (SAYINSU et al., 2007).

Apesar das características favoráveis dos polidores líquidos em dificultar o processo de adesão de microorganismos, isso não é o suficiente para evitar a formação de um biofilme. A higienização mecânica com escova e pasta dental, procedimento utilizado por 94% dos pacientes portadores de próteses totais é um recurso necessário para a desorganização, controle da placa e manutenção da prótese e dos tecidos de suporte em condições saudáveis.

---

---

Especificamente em relação ao Biscover®, embora os fabricantes não forneçam muitos detalhes sobre esse material, sabe-se que são constituídos de uma resina BIS-GMA e o polímero é modificado pela adição de monômeros de baixo peso molecular, constituído de TEGDMA e THFMA, com a função específica de controlar a viscosidade e molhamento, facilitando o escoamento e preenchendo falhas microestruturais (LIMA et al., 2008). Apesar de o fabricante afirmar que uma superfície macia e polida sem uma camada pegajosa inibida pelo ar e que um acabamento altamente polido pode ser obtido com um sistema de polimento líquido, o estudo de Guler et al (2009) indicou que o uso desse sistema de polimento pareceu aumentar a pigmentação dos espécimes.

Pouco se sabe sobre as limitações e reais benefícios dos polidores líquidos. Pacientes que recebem próteses totais com polimento líquido deveriam ser avisados sobre a necessidade de reaplicação desse material e muito bem instruídos a não negligenciarem a higiene oral porque o aspecto inicial de lisura e brilho não é permanente (SESMA et al., 2005).

O polimento líquido da superfície da prótese total é temporário, apesar de benéfico. Estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver um produto com uma maior durabilidade. Atualmente, os polidores líquidos podem ser aplicados nas próteses definitivas com limitações, mas eles são principalmente indicados para procedimentos temporários, tais como em próteses provisórias ou aparelhos ortodônticos de acrílico (MANTZIKOS; EPSTEIN, 1998).

Tem sido mostrado que os polidores líquidos não são capazes de compensar todas as irregularidades de superfície (ROEDER; TATE; POWERS, 2000; dos SANTOS et al., 2007; DICKINSON; LEINFELDER, 1990).

No estudo de Zimmerli et al. (2011), os polidores líquidos Lasting Touch®, BisCover®, G-Coat Plus® ou o adesivo dentinário Heliobond® tiveram o potencial de tornar as superfícies rugosas de espécimes de resina composta mais lisas, sem um polimento prévio à aplicação dos mesmos. Esses achados estão de acordo com os estudos de Cilli et al (2009) e Perez et al (2009). Apesar desses resultados, Zimmerli et al. (2011), constataram que dos polidores líquidos utilizados, o Biscover® e o Lasting Touch® não foram capazes de compensar todas as irregularidades do corpo de prova, então eles concluíram que quando esses dois polidores líquidos forem aplicados, seria recomendável realizar primeiro um polimento mecânico refinado.

---

Outros estudos têm relatado que os polidores líquidos não poderiam compensar as irregularidades das superfícies tão bem quanto os procedimentos de polimento tradicionais (TAKEUCHI et al., 2003; ROEDER; TATE; POWERS, 2000). Portanto, alguns estudos recomendam uma combinação de polimento mecânico e líquido (SARAC et al, 2006; dos SANTOS et al, 2007). Também foi relatado que os polidores líquidos em geral tiveram pouco efeito em uma superfície previamente polida da maneira convencional (ROEDER; TATE; POWERS, 2000). Outros estudos provaram que é difícil obter uma superfície regular com polidores líquidos (BERTRAND ET AL, 2000; dos SANTOS et al, 2007).

Na parte primeira de seu estudo, Davidi et al. (2007) mostraram que a formação de biofilme *in vivo* em restaurações provisórias de polimetil metacrilato (PMMA) foi significativamente reduzida quando cobertas com adesivo resinoso. Além disso, o uso da resina para polimento líquido Biscover® como o agente de cobertura preveniu a formação de biofilme nessas restaurações.

Na segunda parte de seu estudo, Davidi et al. (2008), ao analisarem a adsorção de proteína salivar sobre os diversos materiais testados, demonstraram claramente que o adesivo resinoso reduziu de maneira significativa a adsorção de proteína salivar, enquanto que o polidor líquido a preveniu completamente. Sabendo da importância da adsorção de proteína e da formação da película adquirida para a adesão bacteriana e formação de biofilme, essa observação pode promover uma explicação à observação de que a cobertura de restaurações provisórias com resina para polimento líquido previne o acúmulo de biofilme sobre essas restaurações. Parece que a camada de polimento líquido previne a adsorção de proteínas salivares sobre a superfície coberta, portanto prevenindo a formação da película adquirida. Essas proteínas, especialmente alfa-amilase, permitem que bactérias orais tenham aderência às superfícies, incluindo restaurações, e formem biofilme sobre essas superfícies. O polimento líquido inibe a formação de biofilme através da prevenção da adsorção de proteína salivar à superfície coberta.

---

---

## 1.6 Cianoacrilatos

Os estudos mostram a utilização de polidores líquidos em diversos tipos de restaurações e inclusive em próteses totais, no entanto, além do custo elevado esses materiais possuem algumas limitações, nem sempre apresentando o comportamento desejado e relatado pelo fabricante. Encontrar um material de cobertura apropriado é de grande importância clínica. Portanto, os adesivos a base de cianoacrilato são produtos que poderiam ser testados como polidores líquidos e agir no controle do biofilme.

Os alquil-2-cianoacrilatos foram primeiramente sintetizados em 1949 por Ardis, mas somente em 1959 suas propriedades adesivas foram relatadas por Coover. Os cianoacrilatos são substâncias líquidas (monômeros), de baixa viscosidade, incolores e derivados do ácido cianoacrílico, apresentando a fórmula geral  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOR}$ , de forma que o R pode representar um radical metil ( $\text{R}=\text{CH}_3$ ), etil ( $\text{R}=\text{C}_2\text{H}_5$ ), butil e isobutil ( $\text{R}=\text{C}_4\text{H}_9$ ) e octil-cianoacrilato ( $\text{R}=\text{C}_8\text{H}_{17}$ ) (TORIUMI et al, 1990). Os cianoacrilatos polimerizam em poucos segundos, quando entram em contato com a água, ar e superfícies, tais como: endotélio, mucosa, pele, sangue e osso, degradando-se em cianoacetato e formaldeído, com uma ligeira reação exotérmica. Por serem de forma líquida, possuem a habilidade de penetrar em superfícies irregulares dos tecidos, promovendo uma forte adesão (WEBER; CHAPMAN, 1984).

Os cianoacrilatos têm sido utilizados na medicina e odontologia por vários anos. Têm sido aplicados em suturas (BOCCA et al., 1999; BORBA et al., 2000; COOPER; PAIGE, 2006; NASCIMENTO et al., 1996; SANTOS et al., 1990), capeamentos pulpares (BHASKAR et al., 1972), como material retrobturador para cirurgias endodônticas (AZEVEDO; MARQUES; BOMBANA, 2003; DOURADO ET al., 2005), como materiais adesivos no fechamento de retalhos gengivais, em lacerações mucosas e cutâneas (DOURADO et al., 2005), selamento de canais radiculares, redução da sensibilidade dentinária e do cimento (HEROD,1950) e como coadjuvante do isolamento absoluto. (ARAÚJO et al.,2003; ROAHEN; LENTO,1992)

Em medicina veterinária, existem relatos empregando os cianoacrilatos em anastomose intestinal (MATERA, 1975), hemostasia de úlceras gástricas experimentais em cães (PROTEL et al., 1978), esofagoplastia cervical em coelhos (FERRIGNO, 1995),

---

cicatrização de ferimentos cutâneos por queimadura em suínos (SINGER et al., 2000), ferimentos cutâneos experimentalmente infectados em cobaias (QUINN et al., 1997), síntese cutânea em gatos (QUEIROZ et al., 2000), reparação da veia jugular externa em coelhos (FERRIGNO, 2000), anastomose vesico-uretral em cães (GRUMMET et al., 2002) e tuba uterina de coelhas (RIVOIRE, 2006), dentre outros.

Todo material para uso biológico tem que ser biocompatível. Novos materiais estão constantemente sendo liberados e necessitam de pesquisa para avaliar suas propriedades e viabilidade comercial (MORETTI NETO et al, 2008). Um dos problemas mais severos do uso do cianoacrilato é a sua citotoxicidade, por isso, alguns estudos têm sido feitos para verificar a biocompatibilidade dos cianoacrilatos tanto *in vivo* (BHASKAR et al., 1972; COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000) quanto *in vitro* (AZEVEDO; MARQUES; BOMBANA, 2003). Contudo, os adesivos podem ter diferentes componentes químicos na sua fórmula e novos estudos têm que ser feitos para verificar essas variações. (MORETTI NETO, 2008).

Estudos visando conseguir menor toxicidade e maior capacidade de adesão passaram a ser realizados em grande escala (REFOJO et al., 1968; ARONSON et al., 1970; SANI & REFOJO, 1972; ROBIN et al., 1989; OLLIVIER et al., 2001). A partir de então, os cianoacrilatos têm sido utilizados em cirurgias abdominais, ginecológicas, ortopédicas, neurológicas, plásticas, urogenitais, vasculares, torácicas e bucomaxilofaciais, dentre outras (DONKERWOLCKE et al., 1998).

A toxicidade desses adesivos está relacionada à sua velocidade de degradação e ao tamanho da cadeia, ou seja, quanto maior for a cadeia lateral, menor a velocidade de degradação e menor a histotoxicidade, e também quanto maior a cadeia lateral maior o tempo de cura. (WEBER; CHAPMAN, 1984; SHERMAK, et al., 1998). Derivados mais antigos, que possuem cadeias laterais curtas, como por exemplo o metil e o etil-cianoacrilato, que contém, respectivamente, um e dois carbonos em suas cadeias laterais, degradam-se rapidamente em cianoacetato e formaldeído (TROTT, 1997).

Shermack et al. (1998) e Thumwanit e Kedjarune (1999) observaram que o metil-cianoacrilato é o que apresenta o maior grau de histotoxicidade, causando edema e necrose tecidual, sendo contra indicado para o uso clínico (KLINE; KAYES, 1963).

O adesivo etil-cianoacrilato, enquanto foi utilizado em síntese de feridas, em humanos, apresentou resultados satisfatórios, sem efeitos adversos ou complicações

---



cosméticas e hemostasia imediata, quando comparado com a técnica convencional de sutura (BARREIRO; RAMIREZ; LOPEZ, 1995; VANHOLDER et al., 1993). No dorso de animais, o etil-cianoacrilato também promoveu hemostasia imediata, simplificou e abreviou o procedimento operatório, não interferindo no processo de reparo, não ocorrendo, assim, supuração, necrose tecidual ou retração das margens da ferida, nas áreas operadas, em relação ao fio de sutura (SANTOS et al., 1990).

Kimaid et AL (2000), verificaram as reações teciduais em desgastes ósseos cirúrgicos após a aplicação do adesivo químico etil-cianoacriato no osso parietal de ratos. Foi investigada a sua aceitação e a sua interferência no processo de reparo ósseo por meio de microscopia de luz. Quarenta ratos foram utilizados e divididos em dois grupos: tratado e controle. No grupo tratado, o etil-cianoacrilato foi aplicado sobre a superfície do desgaste ósseo e no grupo controle nenhum material foi aplicado. Em seguida procedeu-se às suturas do periósteo e da pele. Decorridos 24 horas, 3,7,30 e 60 dias de cirurgia, quatro animais de cada grupo foram sacrificados. Os resultados obtidos possibilitaram concluir que a resposta inflamatória foi mais intensa no grupo tratado do que no controle. O etil-cianoacrilato permaneceu sobre a área do desgaste ósseo até o período de observação de 60 dias, e os tecidos adjacentes ao referido material encontravam-se com aspecto de normalidade. O adesivo químico não interferiu no processo de reparo ósseo.

Segundo Araújo et al. (2003), o etil-cianoacrilato quando aplicado diretamente sobre a mucosa gengival, com o propósito de fixar o dique de borracha em pacientes que necessitavam de tratamento endodôntico em dentes sem coroa clínica ou com essa severamente destruída, não causou genotoxicidade sobre o tecido epitelial se comparado aos resultados do grupo controle, quando avaliado pelo teste de micronúcleos.

Investigações avaliando a degradação do butil-cianoacrilato após a sua implantação subcutânea em ratos mostraram a sua permanência por até cinco meses em 90% dos casos (PANI et al., 1968). Quando não utilizados topicamente, os cianoacrilatos agem como corpos estranhos podendo induzir à inflamação, necrose tecidual e a infecções (REECE et al., 2001). A injeção intravascular do butil-cianoacrilato suscita moderada inflamação eosinofílica após 24 horas, mas mínima decorridos sete dias (SUGA et al., 2002).

Em relação à biocompatibilidade, bons resultados foram obtidos com *n*-etil-2-cianoacrilato e *n*-isobutyl-2-cianoacrilato em diferentes aplicações clínicas. Eles foram utilizados em ortopedia para osteosíntese de fratura (CAPASSO et al., 1991), em

---

gastroenterologia para tratamento de varize de esôfago (DIMPERIO et al., 1996), em odontologia e estomatologia, em cirurgia maxilo-facial e em cirurgia vascular (PALMIERI, 1994).

Em estudo comparando a síntese corneal com fio de sutura poliglactina-910 ou com butil-cianoacrilato verificou-se, à histopatologia, reparação completa do epitélio e estroma corneais, sem presença de células inflamatórias aos 30 dias de pós-operatório nos animais do grupo butil-cianoacrilato (MOTA et al., 2004).

No estudo de Montanaro et al. (2000), a biocompatibilidade de duas colas cirúrgicas de cianoacrilato (Glubran e Glubran 2), fornecidas pela General Enterprise Marketing, Viareggio, Lucca, Italy, foram testadas para citotoxicidade e compatibilidade sanguínea e a avaliação da atividade antimicrobiana. Os componentes da Glubran eram: etil [2] cianoacrilato (monômero), butil acrilato (monômero) e methacryloxysulpholane (monômero). Glubran 2 era baseada em *n*-butil [2] cianoacrilato (monômero), methacryloxysulpholane (monômero). A citotoxicidade foi severa com as colas não diluídas, mas foi aceitável quando as colas foram diluídas. Ao contrário, a compatibilidade sanguínea foi aceitável para o uso pretendido das colas. Nem a Glubran e nem a Glubran 2 inibiram o crescimento bacteriano nas tiras de *Bacillus subtilis* var. niger, mas puderam dificultar a extensão da contaminação de um grande número de bactérias introduzidas dentro dos materiais de teste. O objetivo do teste de infectabilidade foi a avaliação da atividade antimicrobiana do Glubran sobre o *Bacillus subtilis* var.niger, com relação à hipótese de um “efeito antibacteriano” da cola, o qual foi relatado para outros cianoacrilatos. Foi demonstrado que o *n*-2-butyl-cianoacrilato (Histoacryl blue) teve um efeito antibacteriano particularmente sobre organismos gram-positivos; em adição, a cola não se tornou contaminada após repetido uso (QUINN et al., 1995).

Outros autores testaram a biocompatibilidade in vitro do *n*-butil-2-cianoacrilato e *n*-etil-2-cianoacrilato. *N*-butil-2-cianoacrilato foi avaliada em ratos Wister, através da inserção de uma alça intestinal, com o objetivo de testar o seu uso para suturas em cirurgias abdominais. O exame histológico demonstrou uma baixa toxicidade e um bom efeito adesivo (TEBALA et al., 1994). Bons resultados também foram obtidos com outros implantes experimentais de alças intestinais (TEBALA et al., 1995). Observações clínicas comparativas demonstraram que o *n*-butil-2-cianoacrilato induziu uma epitelização melhor, uma formação da cicatriz menos marcada e uma menor inflamação local do que as suturas de seda (GIRAY et al., 1997).

---

Palmieri et al, 1994, através de um teste in vivo do *n*-etil-2-cianoacrilato e *n*-isobutil-2-cianoacrilato, observaram uma boa histocompatibilidade. Eles sugerem que a toxicidade do cianoacrilato foi essencialmente devido a uma desidratação inicial dos tecidos. Quando os cianoacrilatos foram completamente polimerizados eles não induziram nenhuma reação tecidual, com exceção da remoção lenta e gradual de fragmento de macrófagos.

Segundo Weber e Chapman (1984) e Toriumi et AL (1990), quanto menor é a cadeia do éster, maior é a sua histotoxicidade, porque a sua degradação torna-se mais rápida. Contudo, Saska, Hochuli-Vieira e Gaspar (2009) observaram que a Super Bonder® não provocou, em nenhum período, reação inflamatória em maior intensidade que o Histoacryl® nos espécimes, onde se realizou a coaptação das margens da incisão. Corroborando aos resultados de Santos et al. (1990) e Souza et al. (2007), que utilizaram Super Bonder® e sutura para coaptação de incisões, em dorso de rato, e observaram que o adesivo foi menos agressivo que a sutura.

Os adesivos de cianoacrilatos como Super Bonder® e Histoacryl®, apresentam inúmeras vantagens, a saber: resultados cosméticos aceitáveis, ausência de complicações, custo-benefício (principalmente quando se trata da Super Bonder®), não necessitam de anestesia local para realização do procedimento de coaptação, não há necessidade de remoção de sutura (dentro de 5 a 10 dias são eliminados) e servem como barreira contra penetração de microorganismos (GOKTAS et al., 2002; PELISSIER et al., 2001) além do tempo operatório ser menor, em relação à sutura convencional (PÉREZ et al., 2000; GIRAY et al., 1995).

O objetivo do estudo de Moretti Neto et al. (2008), foi analisar a biocompatibilidade de três adesivos a base de cianoacrilato no tecido subcutâneo. Trinta e seis ratos Wistar foram utilizados, divididos em 4 grupos de 9 animais cada: A (controle) -água destilada, B -éster de cianoacrilato (Super Bonder®), C- *n*-butil-cianoacrilato (Histoacryl®) e D- alfa - cianoacrilato (Three Bond®). Análise subjetiva do material histológico mostrou que todos os grupos apresentaram algum grau de irritabilidade, mas a reação inflamatória diminuiu com o tempo experimental em todos os grupos. O grupo D mostrou uma reação inflamatória que foi mais próxima daquela do grupo controle e foi considerada por ter boa biocompatibilidade. Os grupos B e C foram similares e apresentaram reações inflamatórias mais agressivas quando comparadas ao grupo controle. Baseado nos resultados, foi concluído que o alfa-cianoacrilato (Three Bond®) foi o adesivo mais biocompatível porque ele causou os menores níveis de inflamação.

---

Os cianoacrilatos de cadeia mais longa atualmente disponíveis como por exemplo o 2-octil-cianoacrilato, possuem degradação mais lenta, limitando o acúmulo de subprodutos tóxicos a quantidades que podem ser eficientemente eliminadas pelo organismo (PANI et al., 1968; VOTE; ELDER, 2000). Segundo Trott (1997), a histotoxicidade dos cianoacrilatos também é dependente dos níveis de vascularização do tecido.

Em oftalmologia, desde a década de 30, estudos sobre a utilização dos adesivos teciduais comprovaram os benefícios do metil-cianoacrilato para uso em procedimentos de superfície (ELLIS; LEVINE, 1963; BLOOMFIELD et al., 1963). Desde então, tais materiais têm sido aplicados em seres humanos, no tratamento de úlceras, perfurações e “melting” corneais, com resultados satisfatórios (BORUCHOFF et al., 1969; HIRST et al., 1982; TARAVELLA & CHANG, 2001; KORN & KORN, 2005; SETLIK et al., 2005).

O etil-cianoacrilato (Super Bonder®) é um éster do ácido cianoacrílico com dois carbonos em sua cadeia lateral. Está indicado pelo fabricante como adesivo instantâneo para colagem de couro, borrachas, porcelana, metal, madeira, cartolina, e alguns tipos de plásticos. Apresenta-se na forma líquida e transparente. Pode ser facilmente encontrado comercialmente e possui baixo custo. Apesar de não ser comercializado para finalidades médicas, tem sido utilizado com eficácia na oftalmologia humana (UEDA; TTAIANO, 2004; FELBERG et al., 2003).

Em estudo comparando custos com material para reparações de perfurações corneais (com até 2,5 mm de diâmetro) realizado com Super Bonder® ou com suturas, excluindo despesas referentes ao procedimento anestésico e com internação, concluiu-se que, com suturas ele é de, aproximadamente, sete vezes mais oneroso (UEDA ; OTTAIANO, 2004).

Em virtude de a Super Bonder® não apresentar, em sua embalagem, indicação de esterilidade, um estudo microbiológico avaliou esse adesivo com relação ao crescimento bacteriano em tubos contendo BHI (“Brain Hert Infusion”) e em placas de ágar sangue, ágar chocolate e ágar Sabouraud. Os resultados revelaram o não crescimento de microrganismos (UEDA et al., 2004).

Outros autores têm demonstrado que o etil-cianoacrilato tem efeito bacteriostático (PALMIERI, 1994). O autor gotejou a cola diretamente sobre placas com ágar sangue previamente semeadas com *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*: a inibição do crescimento bacteriano foi observada após 24 h.

---

---

Kimaid et al. (2000) afirmaram que em todos os períodos de observação da pesquisa, na qual foi utilizado o etil-cianoacrilato, não foi observado qualquer sinal de infecção bacteriana. Diante disso os autores acreditam que o etil-cianoacrilato também poderia possuir alguma propriedade antimicrobiana, uma vez que se tem descrito na literatura que o monômero dos cianoacrilatos apresenta uma forte propriedade bactericida (HUNTER, 1976).

Algumas pesquisas sugerem a ocorrência de propriedade antimicrobiana para o isobutil-cianoacrilato (BLUM; NOLT; ROBERTSON, 1975; HUNTER, 1976).

Estudos *in vitro* têm mostrado que o 2-octil-cianoacrilato é efetivo como uma barreira antimicrobiana durante as primeiras 72 horas após a aplicação. A pele formada pelo 2-octil-cianoacrilato é efetiva contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, bem como espécies móveis e não móveis incluindo o *Staphylococcus epidermis*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecium*. Esse resultado é sugestivo de que há um efeito bacteriostático ainda não elucidado quando em presença do cianoacrilato. É, portanto um sistema de fechamento e proteção da ferida com as vantagens de um melhor manejo na fase pós operatória e custo reduzido. (HOWELL et al., 1995; SHAPIRO; DINSMORE; NORTH, 2001)

O octil-cianoacrilato (Dermabond®), um éster do ácido cianoacrílico com oito carbonos em sua cadeia lateral é um adesivo desenvolvido para uso em pele. Líquido, esterilizado e de coloração violeta claro, está aprovado para fins médicos pela “Food and Drug Administration” (FDA). Apresenta-se na forma de ampolas com ponta apropriada para uso na forma de canetas aplicadoras, contendo 25 ou 50 µL. Após o emprego sobre a superfície, o líquido torna-se viscoso e polimeriza-se em minutos. É um produto de aquisição autorizada apenas para profissionais da área médica e apresenta custo cerca de 20 vezes maior do que o do etil-cianoacrilato. Está indicado para manter unidas bordas facilmente aproximáveis de feridas cirúrgicas ou de feridas traumáticas simples. O produto é contra-indicado em casos de feridas com infecção ativa, gangrenas ou úlceras de apoio, superfícies mucosas ou junções mucocutâneas e em pacientes que apresentem hipersensibilidade ao cianoacrilato ou ao formaldeído (DERMABOND, 2000).

Ludlow, Kutcher e Samuelson (2000) testaram o uso do 2-octil-cianoacrilato em úlceras aftosas recorrentes obtendo ótimos resultados. Segundo Toriumi et al (1998), o 2-octil-cianoacrilato apresenta resultados estéticos e cicatriciais satisfatórios em odontologia na área de cirurgia buço-maxilo-facial. A resposta inflamatória desenvolvida pelo 2-octil-

---

cianoacrilato é descrita como leve, isto é, inferior aos fios convencionais, o que o faz mais vantajoso com relação ao seu uso (BHASKAR; TORIUMI; SANTOS, 1966). Novos estudos precisam ser realizados para tornar o produto de fácil aplicação e mais acessível visando ampliar o uso do 2-octil-cianoacrilato nas especialidades cirúrgicas, principalmente em áreas onde as exigências estéticas são maiores (DOURADO et al, 2005).

O 2-octil-cianoacrilato, aprovado para uso em ferimentos superficiais, tem sido amplamente utilizado. Este biomaterial apresenta elevado potencial para ser empregado na liberação lenta e localizada de medicamentos analgésicos, antibióticos, quimioterápicos e fatores de crescimento, dentre outros (RYOU et al, 2007).

Alguns adesivos de cianoacrilato são utilizados com a intenção de uso no preparo da pele, tais como os iodóforos, produtos contendo álcool, gluconato de clorexidina e são aplicados antes da incisão cirúrgica. O selante microbiano se une à pele com a intenção de isolar e imobilizar qualquer flora da pele residente sobrevivente, incluindo aqueles remanescentes nos folículos dos pêlos (TOWFIGH et al., 2008).

Uma nova barreira adesiva, um selante microbiano a base de cianoacrilato (InteguSeal®, Kimberly-Clark, Dallas, TX), utilizado para imobilizar a flora da pele antes da preparação da pele, obteve a aprovação do FDA em 2006 (TOWFIGH et al., 2008). O cianoacrilato não é supostamente antimicrobiano. Essa preparação a base de cianoacrilato forma um filme para selar as bactérias. Um estudo clínico randomizado, prospectivo realizado em 177 pacientes que se submeteram a um reparo aberto de hérnia inguinal revelaram que a aplicação de cianoacrilato reduziu a taxa de contaminação da pele de 47% a 31% quando comparados com as preparações convencionais (TOWFIGH et al., 2008) Os dados do estudo sugerem que a utilização do InteguSeal® como selante microbiano de cianoacrilato reduz a contagem de bactérias na borda da pele onde a cirurgia é realizada. Outro estudo suporta que a contaminação da ferida é reduzida utilizando um tipo de cianoacrilato para preparação da pele produzindo uma barreira tipo filme (BADY; WONGWORAWAT, 2009).

Santos (1999) realizou um estudo comparativo entre o Cianoacrilato e o Prime Bond 2.1 no tratamento da hipersensibilidade dentinária após terapia periodontal, onde observou que os dois sistemas foram efetivos na redução da dor e apontaram o etil-cianoacrilato como nova alternativa terapêutica.

---

---

## 1.7 Técnicas empregadas na análise de biofilmes

Tradicionalmente, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem sido o método de escolha para análise dos biofilmes devido à sua alta resolução. Essa técnica permite a observação da presença e da morfologia dos microorganismos, assim como da formação de biofilme e das diferentes associações microbianas na superfície de materiais poliméricos. Além disso, possibilita a análise minuciosa dos microorganismos em biofilmes, como a remoção desses da superfície do material e alterações na sua morfologia. No entanto, essa técnica requer, como pré-requisito, que o biofilme seja submetido aos processos de desidratação e de fixação, portanto, esta não é apropriada para o estudo de características funcionais de microorganismos em biofilmes, como a viabilidade celular (WOOD et al., 2000).

A microscopia de fluorescência tem se revelado um método mais sensível na caracterização da viabilidade de microorganismos. A determinação da viabilidade por meio desta técnica ocorre através do uso de marcadores fluorescentes, denominados fluorocromos, que possibilitam a avaliação de aspectos funcionais e estruturais das células. O fluoróforo é a parte presente no fluorocromo responsável pela produção de fluorescência. A fluorescência ocorre por um fenômeno onde elétrons do fluoróforo absorvem fótons provindos de uma fonte (lâmpada ou feixe laser) e passam de um estado fundamental de energia mais baixa para um estado excitado de energia mais elevada. Nesse estado, o fluoróforo passa por uma mudança em sua conformação e pode interagir com uma série de moléculas ao seu redor. Com isso, a energia desse estado excitado é dissipada em forma de fóton e o elétron retorna novamente para o estado de menor energia. A técnica de microscopia de fluorescência consiste justamente em captar este fóton que é emitido e através dele gerar uma imagem (ALBERTS, 2004).

Entre as técnicas de microscopia de fluorescência, a microscopia confocal de varredura a laser, associada à aplicação de fluorocromos específicos à amostra a ser analisada, proporciona a análise de biofilmes sem o preparo dos espécimes, dispensando procedimentos como a desidratação, a embebição e a fixação (ZAURA-ARITE; VAN MARLE; TEN CATE, 2001). Desse modo a arquitetura e organização interna do biofilme são mantidas, além de outras características, como a espessura e a viabilidade celular (WOOD et al., 2000). Outra vantagem do microscópio confocal para o estudo do biofilme é a sua capacidade de captar

---

imagens em diferentes profundidades de foco, facilitando a visualização de espécimes irregulares, densos e espessos de maneira tridimensional (KUBINOVA; JANACEK, 2001).

Quanto às técnicas de análise da viabilidade das células fúngicas, a identificação de células viáveis através da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) é demorada e não relata com confiança a capacidade metabólica das células apresentando crescimento lento ou no estado de não divisão (MILLARD et al., 1997). Isso é fundamental, visto que diante de alterações ambientais, microorganismos, entre eles a *C. albicans*, podem alterar seu estado fisiológico, interrompendo a divisão celular, mas mantendo suas atividades metabólicas. Por isso, a determinação da viabilidade microbiana deve abranger outros aspectos além da proliferação celular (WEIGER et al., 2002). Métodos de contagem direta, os quais tipicamente envolvem pigmentação vital com indicadores, tais como o azul de metileno ou o sal de tretazolium, são utilizados para acessar a atividade de oxi-redução dos fungos. Embora essa análise seja simples para ser realizada, ela demonstra não ser fidedigna em fungos, devido ao fato de haver inconsistência na retenção dos indicadores nessas células, assim como o fato das superfícies dessas células não serem específicas para esses indicadores (MILLARD et al., 1997).

Em relação à utilização de fluorocromos na análise da viabilidade de células fúngicas presentes em biofilmes, a literatura demonstra a frequente utilização do fluorocromo FUN-1 com esse propósito. Através desse marcador, as células fúngicas metabolicamente não ativas (não viáveis) emitem uma coloração fluorescente difusa verde-amarelada, enquanto que nas células metabolicamente ativas (viáveis), o FUN-1 é convertido em estruturas cilíndricas intravacuolares de coloração laranja-avermelhada, fazendo com que essas células emitam essa mesma coloração. Entretanto, o FUN-1 pode provocar a formação de múltiplas estruturas cilíndricas intravacuolares nas células metabolicamente ativas na forma de hifas, possibilitando a superestimação do número de células viáveis quando a densidade celular é elevada no biofilme. Logo, o FUN-1 não é ideal para a avaliação da viabilidade celular de biofilmes fúngicos (JIN et al., 2005).

Na busca de um fluorocromo que suprisse a limitação do FUN-1, Jin et al (2005) obtiveram êxito na determinação da viabilidade de *C. albicans* em biofilmes, através da utilização do Live/Dead® BacLight™ Kit (Molecular Probes, Burlington, ON, Canada), embora este seja comumente utilizado na análise de viabilidade bacteriana. Esse Kit é

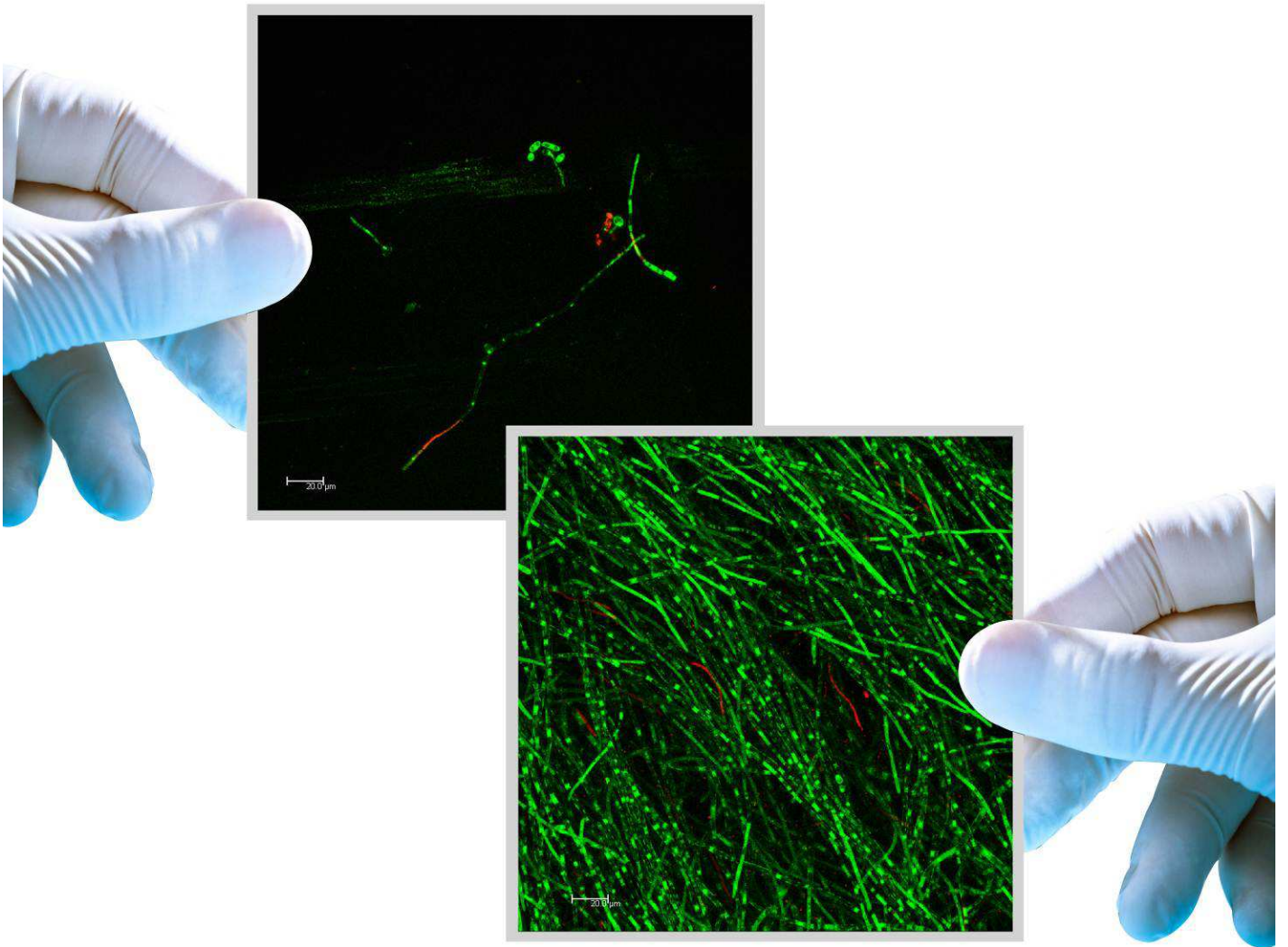
---



composto de dois fluorocromos de afinidade pelos ácidos nucleicos, o SYTO-9 e o iodeto de propídeo.

Através da coloração atribuída por esses fluorocromos, é possível se determinar a viabilidade microbiana, tendo como parâmetro a integridade da membrana citoplasmática, que é imprescindível para a manutenção da viabilidade celular. Quando utilizado sozinho, o fluorocromo SYTO-9 penetra tanto em células vivas quanto em células mortas. Em contraste, o iodeto de propídeo penetra somente em microorganismos mortos, com membrana comprometida. Quando utilizados simultaneamente, o iodeto de propídeo reduz o SYTO-9 no interior das células mortas. Desse modo microorganismos vivos com membrana citoplasmática intacta demonstram fluorescência verde, enquanto microorganismos mortos, com membrana comprometida apresentam fluorescência vermelha (JIN et al., 2005).





*2 Proposição*



## 2 PROPOSIÇÃO

Esse trabalho se propôs a avaliar se as modificações realizadas em resina acrílica para reembasamento seriam eficientes na inibição ou redução da formação de biofilme de *Candida albicans* sobre a resina modificada em função de:

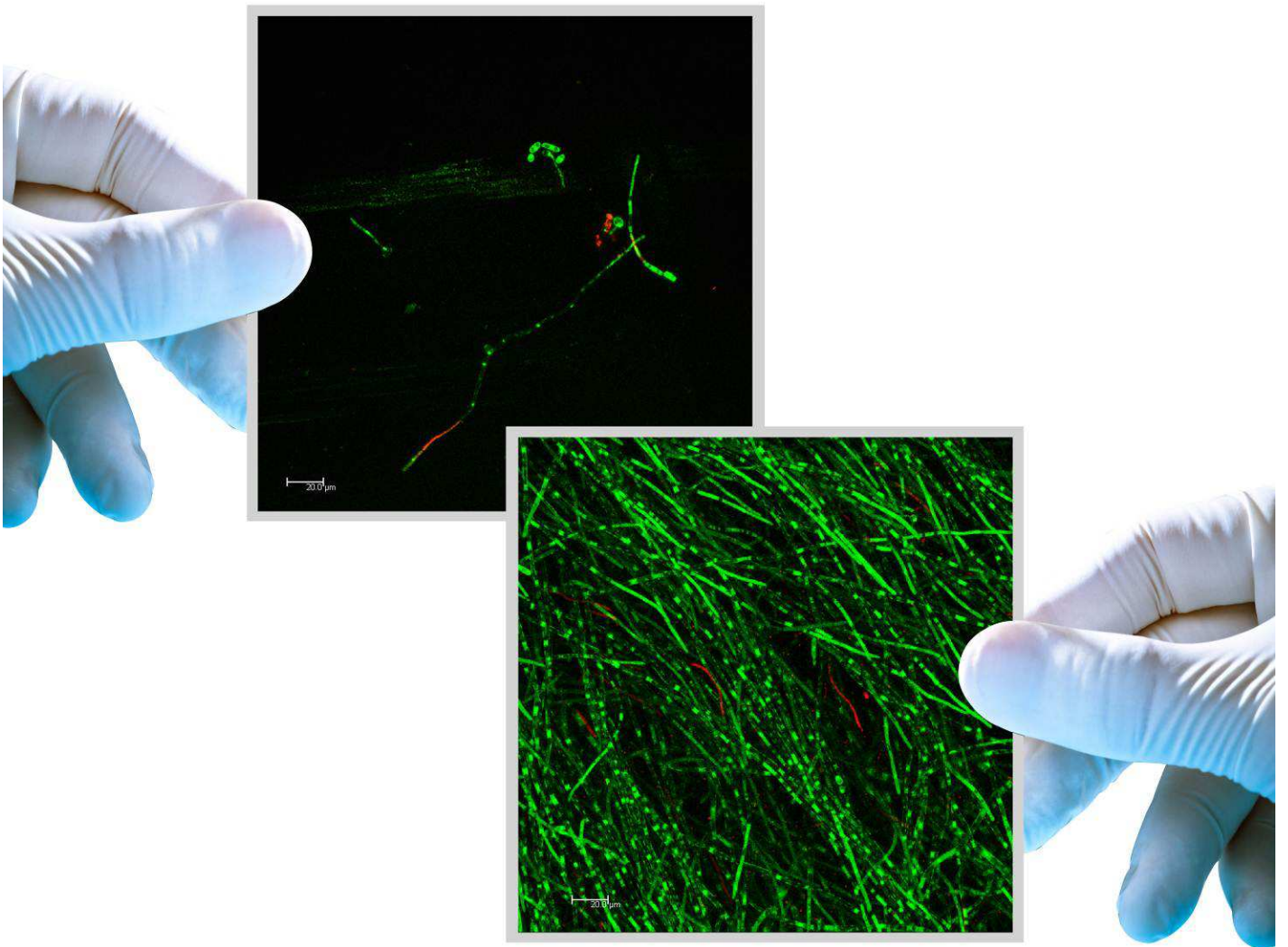
- aplicação de uma camada do adesivo etil-cianoacrilato (Super Bonder®) sobre a superfície rugosa da resina acrílica
- incorporação do adesivo Super Bonder® no interior da resina acrílica
- aplicação de uma camada do polidor líquido (Biscover®) sobre a superfície rugosa da resina acrílica.

Para essa análise foi utilizada a microscopia confocal de varredura a laser, a partir da qual foram avaliados os seguintes parâmetros: Biovolume total, Biovolume verde, Cobertura do substrato e Porcentagem de Células verdes.

---

---





### *3 Material e Métodos*





### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Confeção dos corpos de prova

Antes de explicar a maneira como os corpos de prova foram realizados, é importante elucidar a diferença nos grupos estudados. Ao todo foram realizados 7 grupos, cada um contendo 8 corpos de prova (n=8). O grupo controle constituiu de corpos de prova sem qualquer tipo de tratamento. Os grupos experimentais receberam a aplicação de uma camada de Super Bonder®(Loctite, Henkel, Brasil), um adesivo a base de etil-cianoacrilato ou de Biscover®(Bico, USA) em sua superfície rugosa. Esses grupos foram divididos da seguinte maneira: Para cada material testado, um grupo recebeu a camada do material de cobertura antes da esterilização e o outro grupo após. Baseado em um estudo piloto anterior, existiram ainda os grupos que receberam tratamento através da incorporação da Super Bonder® na resina acrílica, variando a quantidade de três e quatro gotas. Dessa maneira, os grupos foram assim divididos (Figura1).

Grupo 1- controle/G1(C)

Grupo 2- Super Bonder® pincelada na superfície antes da esterilização/ G2(SBAE)

Grupo 3- Super Bonder® pincelada na superfície depois da esterilização/G3(SBDE)

Grupo 4- 3 gotas de Super Bonder® incorporadas na resina/G4(SB3G)

Grupo 5- 4 gotas de Super Bonder® incorporadas na resina/G5(SB4G)

Grupo 6- Biscover® pincelado na superfície depois de esterilizar/G6(BCDE)

Grupo 7- Biscover® pincelado na superfície antes de esterilizar/G7(BCAE)

**Figura 1-** Distribuição dos grupos de acordo com a modificação realizada na resina acrílica

Para confecção dos corpos de prova foi utilizada uma matriz metálica de forma retangular, medindo 30 x 5 x 5mm. Cada matriz, previamente vaselinada, foi preenchida com a resina acrílica rosa autopolimerizável para reembasamento New Truliner (Bosworth Company, USA), homogeneizada com o auxílio de uma espátula nº 31 (SS White Art. Dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ) em recipiente de vidro (Paladon, Pr. Ind. E Comércio de produtos odontológicos, Florianópolis, SC), utilizando-se a proporção recomendada pelo

fabricante. Vale ressaltar que, para os corpos de prova que tiveram a Super Bonder® incorporada no interior da sua resina, essa incorporação ocorreu no momento da manipulação pó-líquido, variando a quantidade de 3 e 4 gotas. A resina acrílica foi inserida no interior da matriz metálica na fase plástica e prensada entre duas placas de vidro (JON Com de produtos odontológicos LTDA, São Paulo, SP) previamente isoladas com vaselina sólida (Hemafarma Com. E Ind. Farmacêutica LTDA, São Gonçalo, RJ), sob peso de 5 Kg, por aproximadamente 15 minutos. Em seguida, o corpo de prova foi removido da matriz e os excessos foram retirados com o auxílio de uma fresa de tungstênio (Edenta AG, Switzerland). As etapas citadas acima estão ilustradas a seguir na Figura 2.



**Figura 2: Confeção dos corpos de prova.** Matriz metálica utilizada (A). Resina acrílica para reembasamento (New Truliner) (B). Preenchimento da matriz com a resina (C).

### 3.2 Lixamento dos bastões de resina acrílica, seccionamento, avaliação da rugosidade superficial e esterilização dos corpos de prova

Cada bastão de resina acrílica teve uma face escolhida, na qual foi realizado um lixamento manual em forma de oito (VERRAN; MARYAN, 1997), por 30 segundos, por meio de lixa d'água na granulação 120 (Norton Abrasivos, São Paulo, SP, Brasil), em baixa velocidade, sob refrigeração em uma politriz circular (Dp-10, Struers-Panambra, São. Paulo, SP, Brasil), em baixa velocidade, sob refrigeração.

Durante os ensaios iniciais dessa pesquisa foram realizadas leituras, por meio de rugosímetro, na superfície mais crítica para higienização das próteses totais, a superfície interna. Os valores oscilaram entre 1 e 2  $\mu\text{m}$ . Baseado nisso, essa mesma média de rugosidade superficial foi determinada na face lixada dos bastões de resina, sendo mensurada através do aparelho rugosímetro Hommel Tester T 1000 basic (Hommelwerke GmbH, ref. # 249851, Schwenningen, Germany). A leitura considerada foi a média aritmética ( $R_a$ ) entre os picos e vales percorridos pela ponta ativa do aparelho, onde o percurso de medição foi de 4.8 mm,

comprimento de onda limite 0.8 mm e velocidade de 0.5mm/s. Foram efetuadas 6 leituras na superfície lixada de cada bastão de resina acrílica (RAHAL et al., 2004).

Cada bastão de resina acrílica foi cortado ao meio, por meio de um disco diamantado (Extec dia. wafer blade 4"x 0.12 x ½ high concen., Erios, São Paulo, SP-Brasil), dando origem aos corpos de prova propriamente ditos, medindo 15 x 5 x 5 mm. Ao final, foram obtidos 56 corpos de prova.

Todos os grupos foram submetidos a um ciclo adicional de polimerização a 100°C por 2 horas na polimerizadora microprocessada digital, modelo Banho Maria (Solab, Piracicaba, SP) para remoção de monômero residual (SHIM; WATTS, 1999). Em seguida os corpos de prova foram submetidos à limpeza em ultrassom (Ultrasonic Cleaner, Arotec, Odontobrás, São Paulo, Brasil) por 20 minutos (PEREIRA-CENCI et al., 2007) em água destilada para remoção de possíveis *debris* na superfície da resina. Posteriormente os corpos de prova foram deixados em ar livre para sua secagem.

Em seguida, os corpos de prova dos grupos G2(SBAE) e G7(BCAE) receberam a camada de Super Bonder® e de Bicoover® antes de serem enviados para a esterilização e os dos grupos G3(SBDE) e G6(BCDE) receberam essa camada após voltarem do procedimento de esterilização. A camada de Super Bonder® foi aplicada com o auxílio de um pincel de pelo de marta (Condor, nº 456, Condor S.A., ao Bento do ul, SC) na face rugosa do corpo de prova e foram esperados 5 minutos para a completa secagem do material. Para a aplicação da camada de Biscover®, também foi utilizado o mesmo tipo de pincel e uma fina camada do material foi aplicada na face rugosa do corpo de prova e polimerizada com um fotopolimerizador com fonte de luz halógena com comprimento de onda de 500mW/cm<sup>2</sup> durante 15 segundos.

Todos os corpos de prova foram então enviados, embalados por grupos, para esterilização por meio de óxido de etileno (Acecil-Central de esterilização comércio e indústria, Campinas, SP) (SILVA et al., 2006; MIMA et al., 2008). As etapas acima citadas estão ilustradas a seguir na Figura 3.

---



**Figura 3:** Lixamento dos corpos de prova na politriz. (A) Corpo de prova após lixado com sua superfície rugosa identificada e voltada para cima. (B) Polidor líquido Biscover® (C) Adesivo Super Bonder® (D) Corpo de prova após voltar da esterilização (E)

### 3.3 Inoculação dos corpos de prova

#### 3.3.1 Preparo do inóculo de *C. albicans*

##### 3.3.1.1 Obtenção da pré cultura

Todos os ensaios microbiológicos foram realizados no laboratório de Microbiologia do Centro Integrado de Pesquisa-1 (CIP-1) da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, sempre em condições assépticas, em capela de fluxo laminar previamente desinfetada com álcool 70°.

Foi utilizada a cepa de *C. albicans* selvagem SC5314 (GILLUM et al., 1984), cedida pelo Laboratório Especial de Micologia da Universidade Federal de São Paulo. O preparo do inóculo foi feito da seguinte maneira: as células foram mantidas a -80°C em solução contendo 20% de glicerol e semeadas em placas contendo meio de cultura YPD (por litro: 10g yeast extract, 10g peptone, 20g glucose [dextrose], 20g Bacto Agar) incubadas a 30°C durante 36 horas em estufa.

Uma única colônia de *C. albicans* foi removida, ressuspensa em 50mL de meio de cultura YPD e mantida em incubadora (Nova Ética) a 30°C, sob agitação de 180rpm overnight (aproximadamente 16 horas).

### 3.3.1.2 Purificação das células fúngicas

Foram retirados 5mL da cultura e colocados em tubos Falcon de 15 mL para centrifugação a 4000rpm por 5 minutos (Eppendorf do Brasil Ltda); em seguida, o sobrenadante foi descartado.

A purificação das células foi feita através de lavagem do pellet com PBS (5 mL), e homogeneização em vórtex seguida de nova centrifugação nas mesmas condições descritas anteriormente, desprezando o sobrenadante. Esse procedimento foi repetido duas vezes.

### 3.3.1.3 Contagem da concentração do inóculo

O pellet final, obtido após o processo de purificação das células, foi ressuspendido em 1mL de PBS e diluído 1:10000. Uma alíquota da diluição foi colocada em câmara de Newbouer para contagem das leveduras em microscópio óptico comum (BIZERRA et al., 2008).

Depois de obtida a concentração final da suspensão, esta foi diluída em PBS para aquisição de inóculo em concentração de  $1,0 \times 10^7$  células/mL (CHANDRA et al., 2001 b).

## 3.4 Formação do biofilme

Vale ressaltar que antes da realização dessa etapa, os corpos de prova dos grupos G3(SBDE) e G6(BCDE) receberam a camada de Super Bonder® e de Biscover® na superfície rugosa de seus corpos de prova, com todo o procedimento realizado no interior de uma capela de fluxo laminar. Utilizando uma pinça estéril (S.S. White Art. Dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ), cada corpo de prova foi colocado em um poço de uma placa de cultura de tecidos de 24 poços (TPP, Switzerland), no qual foi dispensado 3mL do inóculo de *C. albicans* com concentração de  $1,0 \times 10^7$  células/mL, através de pipetas de precisão e ponteiros descartáveis, deixando os corpos de prova totalmente submersos e com sua face rugosa voltada para cima. O tempo de adesão foi de 90 minutos à temperatura de 37°C, sob agitação de 75 rpm, em incubadora (CHANDRA et al., 2001b). Após esse período, as células que não aderiram ao substrato foram removidas através de lavagem individual de cada corpo de prova, imergindo suavemente cada um em 3mL de PBS (HAWSER; DOUGLAS, 1994; KUHN et

---

al., 2002). Na seqüência, os corpos de prova foram submersos em 3mL de meio de cultura RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) e incubados a 37°C sob agitação de 75 rpm, para crescimento do biofilme (BIZERRA et al., 2008).

### **3.5 Análise dos corpos de prova através de microscopia confocal.**

A análise dos corpos de prova utilizados nesse estudo foi realizado através do microscópio confocal Leica TCS-SPE (Leica Microsystems GmbH, Mannheim, Germany).

#### **3.5.1 Processamento dos corpos de prova para a microscopia confocal**

Como a análise no microscópio confocal não permite a análise de mais de um corpo de prova por vez, cada corpo de prova foi processado de forma individual.

Previamente à análise em microscópio confocal, cada corpo de prova foi suavemente imerso em 3 mL de PBS contido no poço da placa de cultura para remoção das células não aderidas. Assim, concluída a lavagem em PBS, cada corpo de prova foi transferido para um poço da placa de cultura de tecidos de 24 poços, contendo 1 mL de PBS, misturado com 1 µl do fluorocromo SYTO-9 (Molecular Probes, Invitrogen Brasil Ltd., São Paulo, SP) e 1 µl do fluorocromo iodeto de propídeo (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). As concentrações dos fluorocromos foram ajustadas durante os ensaios piloto, de maneira a proporcionar um melhor contraste entre as células fúngicas e a resina acrílica. Na sequencia, foram aguardados 20 minutos para que houvesse a difusão dos fluorocromos no biofilme (JIN et al., 2005). Esse procedimento foi realizado na ausência de luz a 37°C, de acordo com as orientações do fabricante.

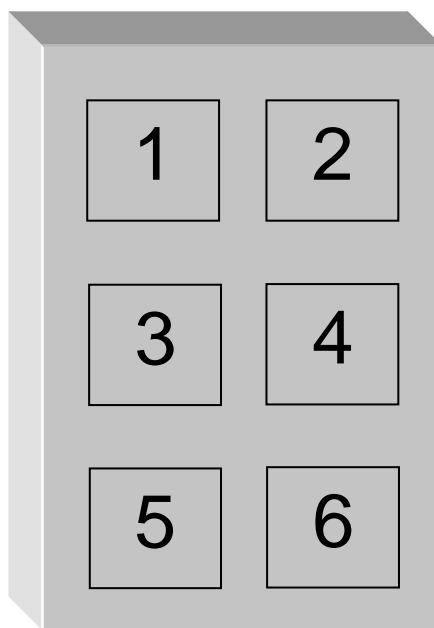
Imediatamente após o período de incubação, cada corpo de prova foi cuidadosamente montado em lamínula de vidro associada a óleo de imersão, com a face rugosa para baixo, para análise do biofilme em microscópio confocal Leica TCS-SPE. A objetiva usada foi uma lente de imersão em óleo (40x; abertura numérica de 1,15).

---

---

### 3.5.2 Análise dos corpos de prova no microscópio confocal

A aquisição das imagens foi realizada de maneira padronizada em 6 diferentes campos (SMITH; HUNTER, 2008), de acordo com a figura abaixo, a fim de que não houvesse a possibilidade de análise de um mesmo campo repetidas vezes.



**Figura 4:** Seqüência padrão de análise dos 6 campos dos corpos-de-prova no microscópio

Para a análise das células do biofilme de cada campo, foi realizada a tomada de uma série de secções ópticas horizontais, com 1µm de intervalo, por toda a profundidade do biofilme. De cada secção foram adquiridas duas imagens, de forma seqüencial. Para o SYTO-9 foi utilizada a excitação em 488 nm, e o detector espectral foi programado para a faixa de 495 a 575 nm. Para o Iodeto de Propídeo, a excitação foi em 532 nm, e a detecção entre 595 e 730 nm. A aquisição seqüencial elimina qualquer interferência que possa existir do fluorocromo verde sobre o vermelho (*cross-talk*). O programa utilizado para a aquisição das imagens foi o Leica LAS AF (Leica Microsystems GmbH, Mannheim, Germany). Posteriormente, também através desse programa, foi realizada a união das duas imagens de cada secção, assim como o agrupamento de todas as secções de cada campo, gerando uma imagem final.

As células viáveis, sem comprometimento de membrana citoplasmática, apresentaram coloração verde, indicando que somente o SYTO-9 estava presente no seu interior. As células

não viáveis, com comprometimento de membrana citoplasmática celular, apresentaram coloração amarelo-avermelhada, indicativa da presença do SYTO-9 e do Iodeto de Propídeo no seu interior.

As imagens de cada grupo adquiridas pelo microscópio confocal foram analisadas pelo programa Leica Application Suite-Advanced Fluorescence *software* (LAS AF, Leica Mannheim, Alemanha), o qual quantificou em  $\mu\text{m}$  a altura máxima do biofilme em cada campo analisado de cada corpo de prova. A partir desses dados, para cada grupo foi criada uma planilha no Excel, onde os valores de altura máxima do biofilme de cada campo foram inseridos e, a partir dessa etapa, os campos que tinham valores semelhantes foram agrupados, conforme exemplificado no quadro abaixo (Figura 5).

### Grupo3

<b>corpo1</b>	um	7	9.10	11.12	13.14	15.16	21.23
campo1	10	campo13	campo1	campo3	campo5	campo7	campo4
campo2	10		campo2	campo10	campo8	campo28	campo11
campo3	11		campo6	campo15	campo9	campo30	campo12
campo4	21		campo14	campo17	campo18	campo31	
campo5	14		campo16	campo21	campo24	campo33	
campo6	9		campo20	campo23	campo29	campo34	
			campo22	campo26	campo32	campo35	
<b>corpo2</b>	um		campo25	campo27	campo41	campo40	
campo7	15		campo36	campo37	campo44	campo46	
campo8	13		campo38	campo39		campo48	
campo9	14		campo19	campo42			
campo10	11			campo43			
campo11	23			campo45			
campo12	21			campo47			

**Figura 5-** Exemplo de como foi realizada a organização dos valores de altura máxima do biofilme de cada campo em  $\mu\text{m}$ .

A partir dessa organização de valores, as imagens de cada campo com valores iguais ou muito próximos, foram exportadas no formato Tiff através do programa Leica Application Suite-Advanced Fluorescence *software* (LAS AF, Leica Mannheim, Alemanha) para suas respectivas pastas criadas para cada grupo. Depois de feito isso para todos os grupos, foi utilizado o programa bioImageL v.2.0, Suíça, desenvolvido pelo Dr. Luis Chavez de Paz ( Paz LEC, 2009). Esse programa realizou a análise do biofilme de cada grupo, dando como



parâmetros avaliados para cada grupo de campos analisados o Biovolume total (volume total de células viáveis e inviáveis em  $\mu\text{m}^3$ ), o Biovolume verde (volume total de células viáveis em  $\mu\text{m}^3$ ), a Cobertura do substrato em porcentagem, que significa a porcentagem da área do corpo de prova que foi colonizada e a Porcentagem de células verdes.

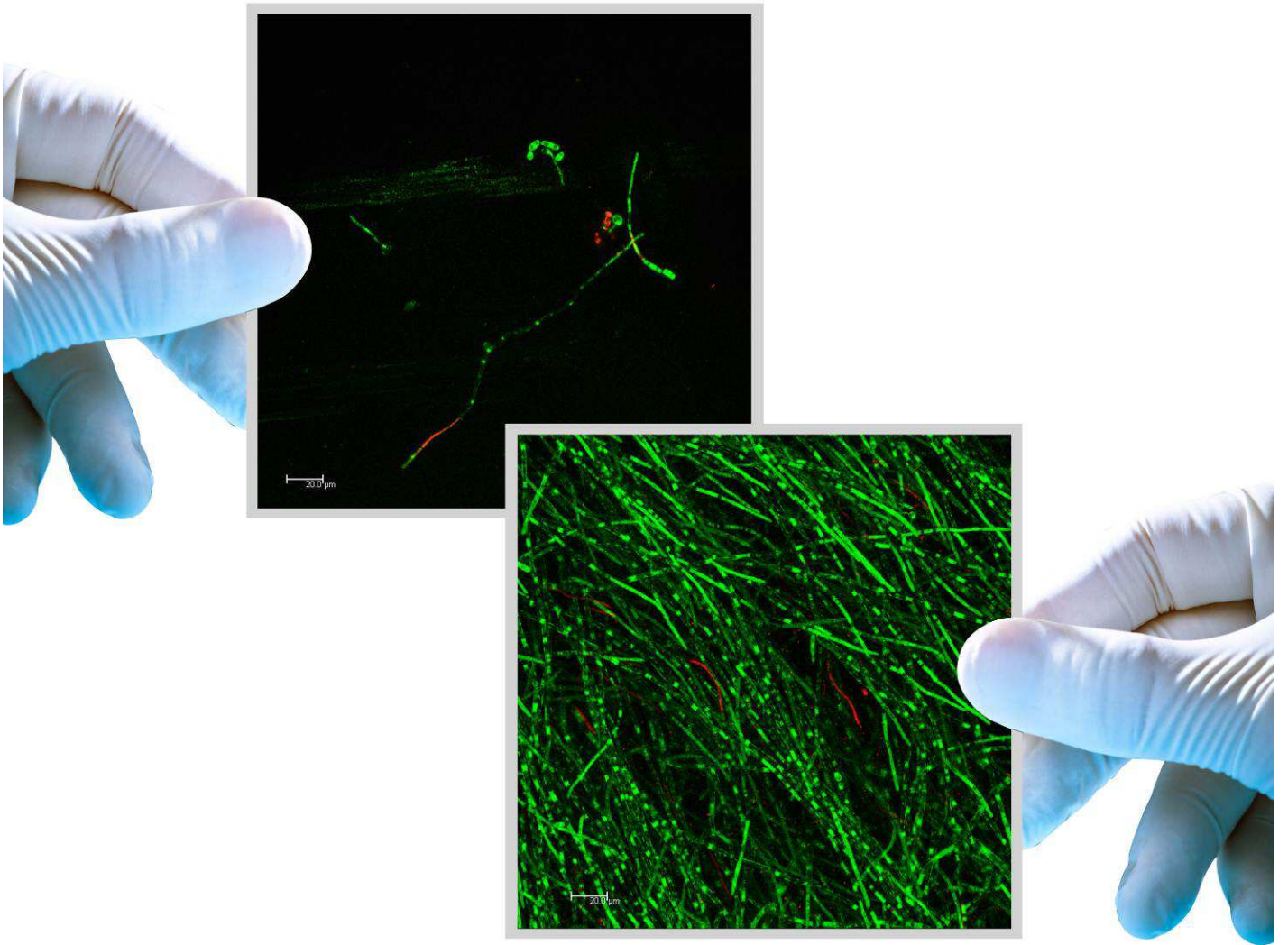
### **3.6 Análise estatística**

Esses dados foram organizados e submetidos à análise estatística. Uma análise preliminar dos dados através do teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov não mostrou uma distribuição normal, portanto os testes de Kruskal-Wallis e Dunn foram utilizados para comparações múltiplas. O nível de significância foi estabelecido em 5% e o Prisma 5.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA) foi utilizado como a ferramenta de análise.

O teste não paramétrico de Kruskal Wallis a um nível de significância de 5% apontou diferenças estatisticamente significativas para os grupos avaliados. Após a aplicação desse teste foi realizada a comparação entre os grupos testados através do teste de comparação múltipla de Dunn a um nível de significância de 5%, a fim de determinar entre quais grupos houve diferença estatisticamente significativa.

---





## 4 Resultados



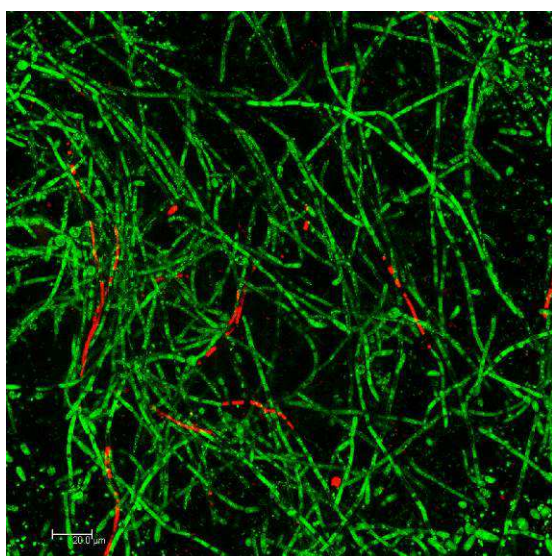
## 4 RESULTADOS

### 4.1 Análise qualitativa do efeito da Super Bonder® e do Biscover® sobre o acúmulo de biofilme em resina acrílica autopolimerizável para reembasamento (New Truliner) através da microscopia confocal

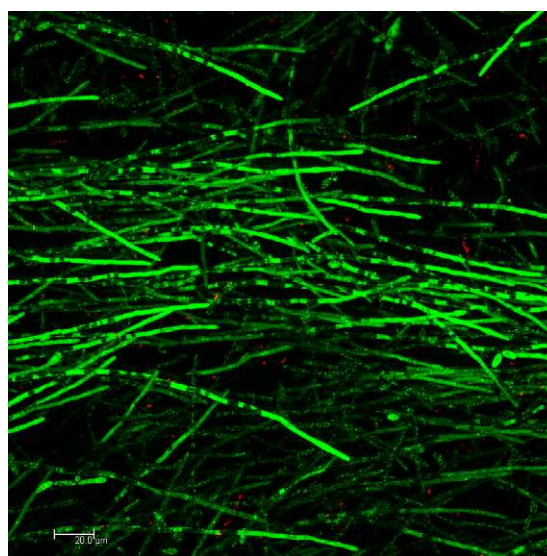
Foram utilizados 8 corpos de prova de cada grupo para a análise do efeito da Super Bonder® e do Biscover® sobre o acúmulo de biofilme em resina acrílica autopolimerizável para reembasamento (New Truliner) através da microscopia confocal. De cada corpo de prova foram adquiridas 6 imagens de diferentes campos do biofilme, totalizando 48 campos para cada grupo.

A análise através do microscópio confocal mostrou a presença de um elevado número de *C. albicans* sobre a resina acrílica autopolimerizável, exceto para os grupos 2 e 3. Na maioria dos campos analisados, as células fúngicas remanescentes se apresentaram aglomeradas na forma tubular ou filamentosa, típica de hifa. Nos grupos 2 e 3 houve a predominância de células na forma de leveduras. As imagens abaixo ilustram os achados obtidos (4.1.1-4.1.7) Figuras 6-19.

#### 4.1.1 Controle / G1(C)

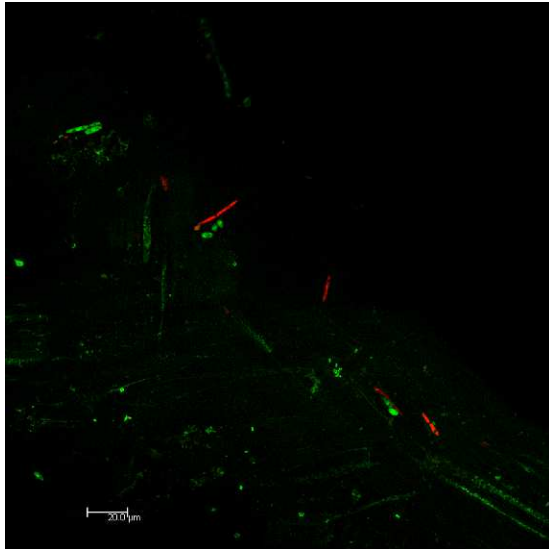


**Figura 6-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 1

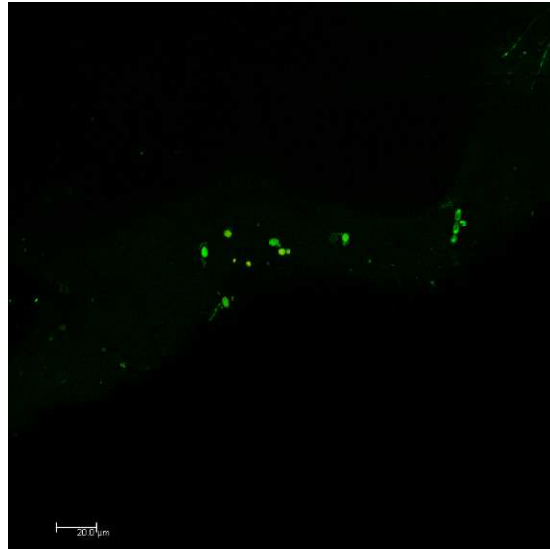


**Figura 7-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 1.

#### 4.1.2 Super Bonder® pincelada na superfície antes da esterilização dos corpos de prova / G2 (SBAE)

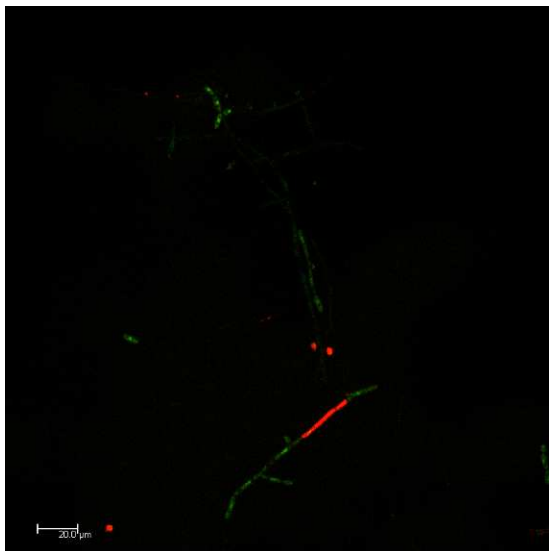


**Figura 8-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 2.

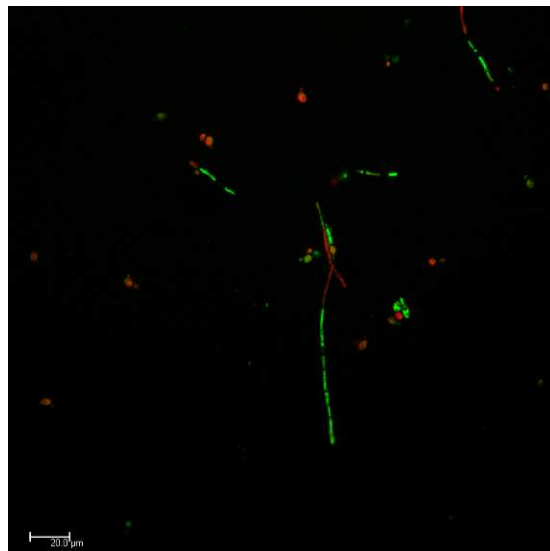


**Figura 9-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 2.

#### 4.1.3 Super Bonder® pincelada na superfície depois da esterilização dos corpos de prova / G3(SBDE)



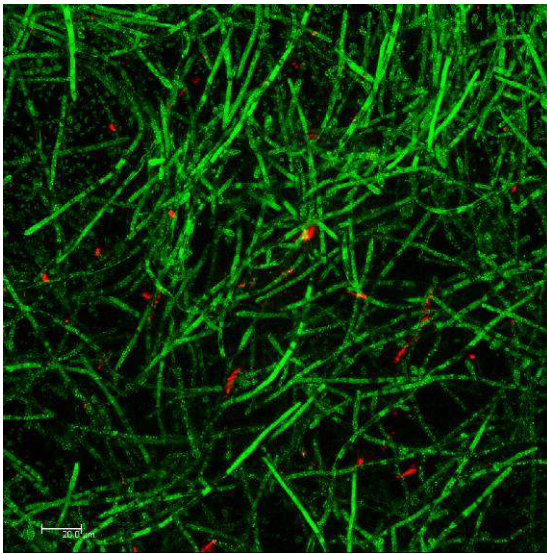
**Figura 10-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 3.



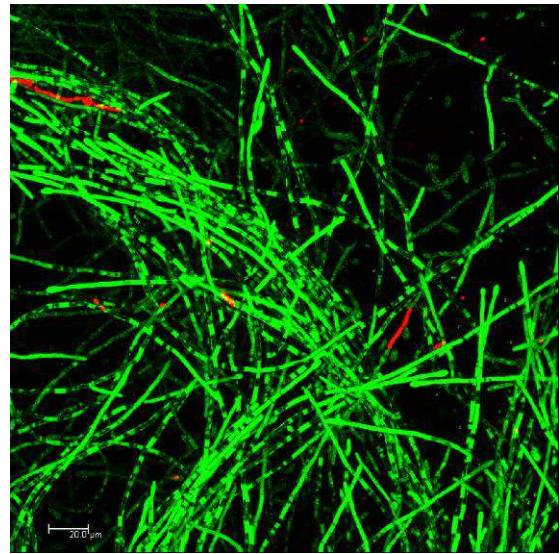
**Figura 11-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 3

---

#### 4.1.4 3 Gotas de Super Bonder® incorporadas na resina / G4(SB3G)

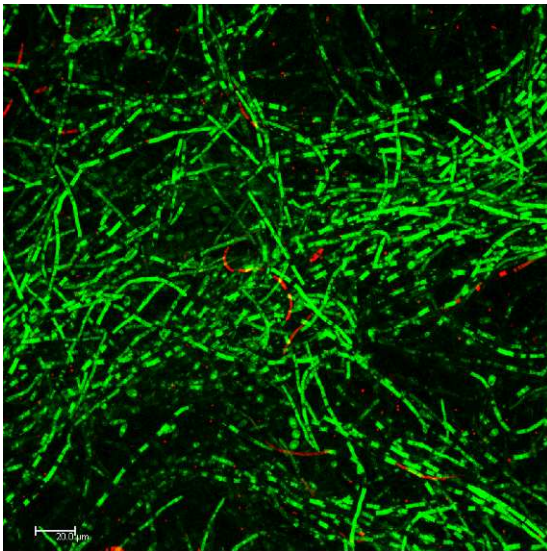


**Figura 12-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 4.

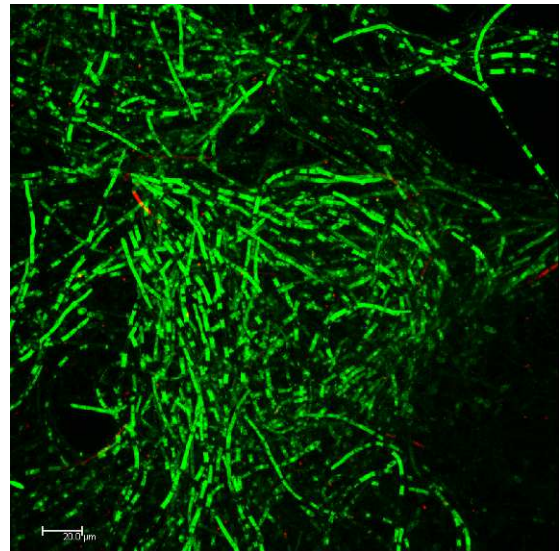


**Figura 13-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 4.

#### 4.1.5 4 Gotas de Super Bonder® incorporadas na resina / G5(SB4G)

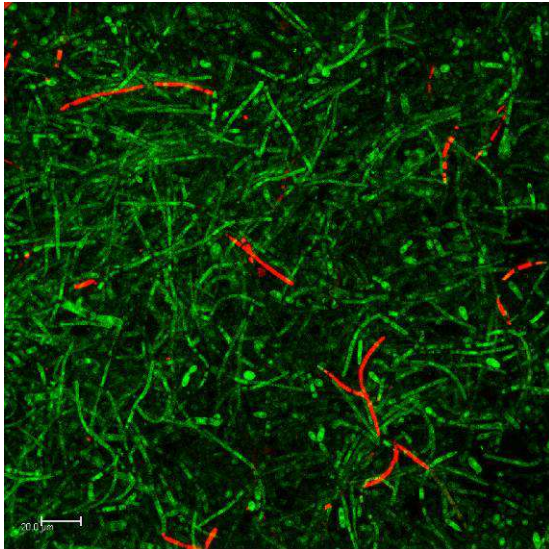


**Figura 14-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 5.

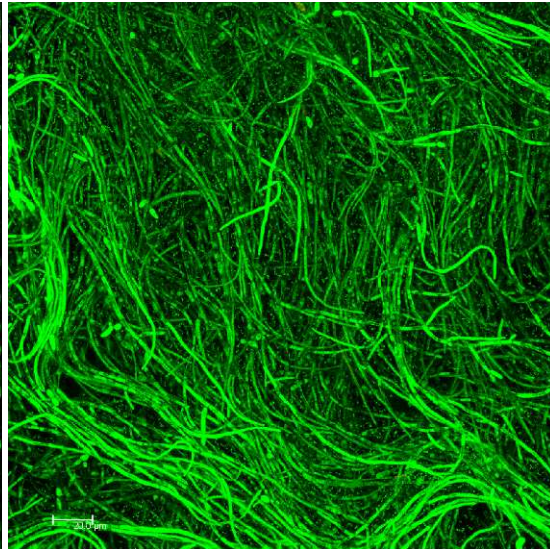


**Figura 15-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 5.

#### 4.1.6 Biscover® pincelado na superfície após a esterilização dos corpos de prova / G6(BCDE)

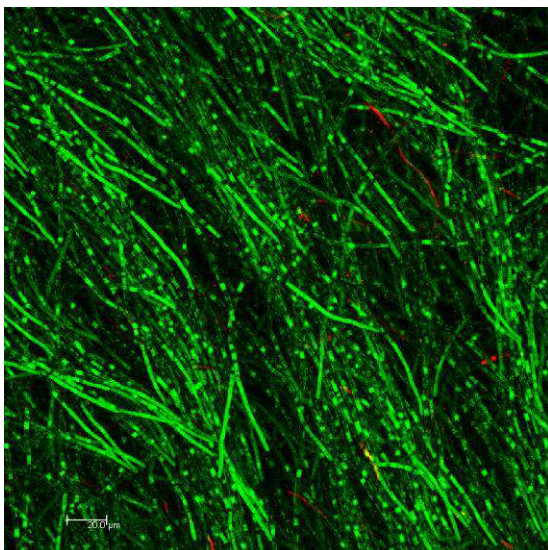


**Figura 16-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 6.

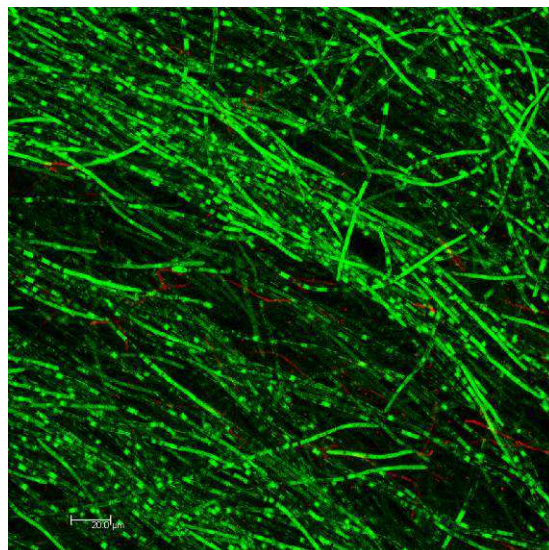


**Figura 17-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 6.

#### 4.1.7 Biscover® pincelado na superfície antes da esterilização dos corpos de prova / G7(BCAE)



**Figura 18-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 7.



**Figura 19-** Sobreposição das imagens de um campo do grupo 7.

---



## 4.2 Análise quantitativa dos dados

### 4.2.1 Biovolume Total ( $\mu\text{m}^3$ )

Um total de 336 “stacks” (campos) confocais foram avaliados para todos os grupos testados (48 para cada grupo). Os valores de mediana, média, máximo e mínimo do Biovolume total (células viáveis e não viáveis) representados em  $\mu\text{m}^3$  estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 1-** Valores de Mínimo, Mediana, Máximo e Média do Biovolume total.

Grupos	G1(C)	G2(SBAE)	G3(SBDE)	G4(SB3G)	G5(SB4G)	G6(BCDE)	G7(BCAE)
Mínimo	49256	251,7	2046	9151	10731	15225	89732
Mediana	517353	19215	35793	620419	324545	1,094 x 10 <sup>6</sup>	1,196 x 10 <sup>6</sup>
Máximo	2,328 x 10 <sup>6</sup>	527319	556716	3,610 x 10 <sup>6</sup>	1,950 x 10 <sup>6</sup>	3,749 x 10 <sup>6</sup>	3,407 x 10 <sup>6</sup>
Média	690277	47349	65454	884933	460159	1,263 x 10 <sup>6</sup>	1,283 x 10 <sup>6</sup>

Biovolume total ( $\mu\text{m}^3$ )

N=8 espécimes em cada grupo

Na tabela 2 estão apresentadas as comparações entre os grupos pelo teste de comparação múltipla de Dunn para os valores de Biovolume total (células viáveis e não viáveis). Considerando as medianas, os valores de Biovolume total variaram de 19215  $\mu\text{m}^3$  – 1,196 x 10<sup>6</sup>  $\mu\text{m}^3$ . Os valores mais baixos para esse parâmetro estudado foram encontrados para os grupos G2(SBAE) e G3(SBDE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P>0.05$ ), mas apresentaram em relação a todos os outros grupos ( $P<0.05$ ). Os valores mais altos foram encontrados para os grupos G6(BCDE) e G7(BCAE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P>0.05$ ), mas apresentaram em relação a alguns grupos, como mostrado na tabela abaixo ( $P<0.05$ ). O grupo G5(SB4G) mostrou uma redução nos seus valores, apresentando diferença estatisticamente significativa quando comparado aos grupos G6(BCDE) e G7(BCAE). ( $P<0.05$ ).

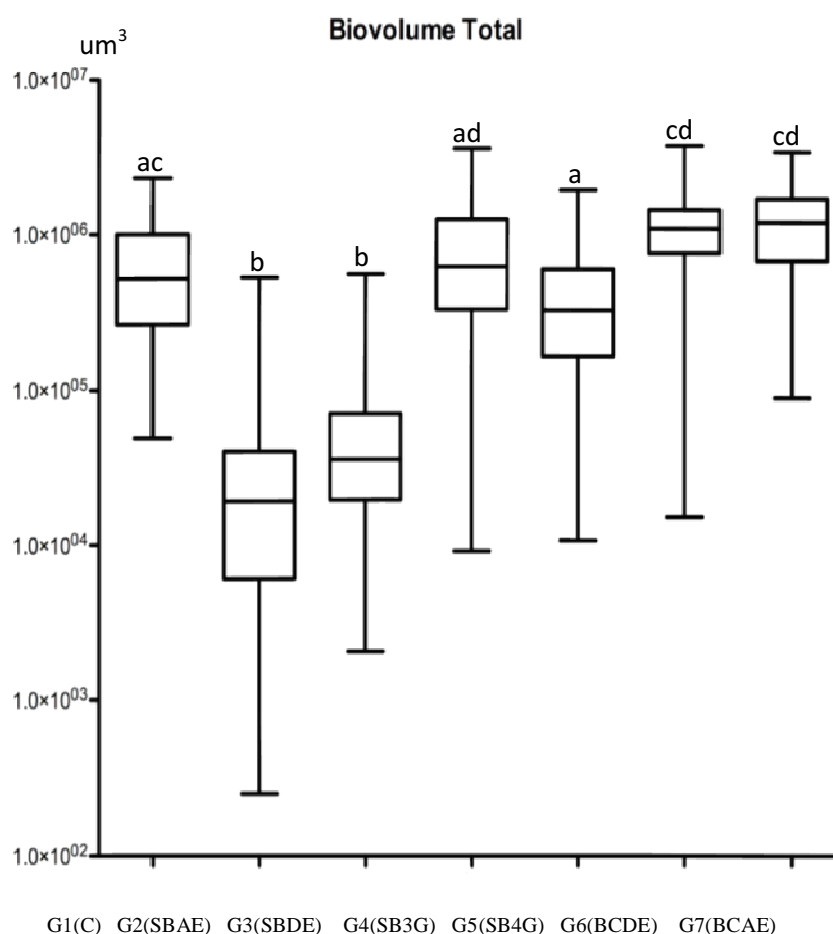
**Tabela 2-** Comparações entre os valores de Biovolume total em  $\mu\text{m}^3$  (células viáveis e não viáveis) para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.

<b>Grupos</b>	<b>Diferença estatisticamente significativa (p &lt; 0.05)</b>
G1(C) X G2(SBAE)	S
G1(C) X G3(SBDE)	S
G1(C) X G4(SB3G)	NS
G1(C) X G5(SB4G)	NS
G1(C) X G6(BCDE)	NS
G1(C) X G7(BCAE)	NS
G2(SBAE) X G3(SBDE)	NS
G2(SBAE) X G4(SB3G)	S
G2(SBAE) X G5(SB4G)	S
G2(SBAE) X G6(BCDE)	S
G2(SBAE) X G7(BCAE)	S
G3(SBDE) X G4(SB3G)	S
G3(SBDE) X G5(SB4G)	S
G3(SBDE) X G6(BCDE)	S
G3(SBDE) X G7(BCAE)	S
G4(SB3G) X G5(SB4G)	NS
G4(SB3G) X G6(BCDE)	NS
G4(SB3G) X G7(BCAE)	NS
G5(SB4G) X G6(BCDE)	S
G5(SB4G) X G7(BCAE)	S
G6(BCDE) X G7(BCAE)	NS

S- Significativo

NS- Não Significativo

Os valores para o Biovolume total em  $\mu\text{m}^3$ (células viáveis e não viáveis) de cada grupo estão apresentados na figura 20.



**Figura 20-** Box plots dos valores de Biovolume total em  $\mu\text{m}^3$  indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si.

#### 4.2.2 Biovolume verde ( $\mu\text{m}^3$ )

Os valores de mediana, média, máximo e mínimo do Biovolume verde (células viáveis) representados em  $\mu\text{m}^3$  estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3-** Mínimo, Mediana, Máximo e Média dos valores de Biovolume verde.

Grupos	G1(C)	G2(SBAE)	G3(SBDE)	G4(SB3G)	G5(SB4G)	G6(BCDE)	G7(BCAE)
Mínimo	45668	220	1722	8011	10524	15061	72,70
Mediana	488295	17590	33460	596434	297693	$1,065 \times 10^6$	$1,166 \times 10^6$
Máximo	$2,162 \times 10^6$	471944	407597	$3,574 \times 10^6$	$1,942 \times 10^6$	$3,749 \times 10^6$	$3,295 \times 10^6$
Média	672506	41928	54330	850886	443255	$1,224 \times 10^6$	$1,219 \times 10^6$

Biovolume verde ( $\mu\text{m}^3$ )

N=8 espécimes em cada grupo

Na tabela 4 estão apresentadas as comparações entre os grupos pelo teste de comparação múltipla de Dunn para os valores de Biovolume verde em  $\mu\text{m}^3$  (células viáveis). Considerando as medianas, os valores de Biovolume verde variaram de  $17590\mu\text{m}^3 - 1,166 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ . O padrão se repetiu. Os valores mais baixos para esse parâmetro estudado foram encontrados para os grupos G2(SBAE) e G3(SBDE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0.05$ ), mas apresentaram em relação a todos os outros grupos ( $P < 0.05$ ). Os valores mais altos foram encontrados para os grupos G6(BCDE) e G7(BCAE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0.05$ ), mas apresentaram em relação a alguns grupos ( $P < 0.05$ ). O grupo G5(SB4G) mostrou uma redução nos seus valores, apresentando diferença estatisticamente significativa quando comparado aos grupos G6(BCDE) e G7(BCAE) ( $P < 0.05$ ).

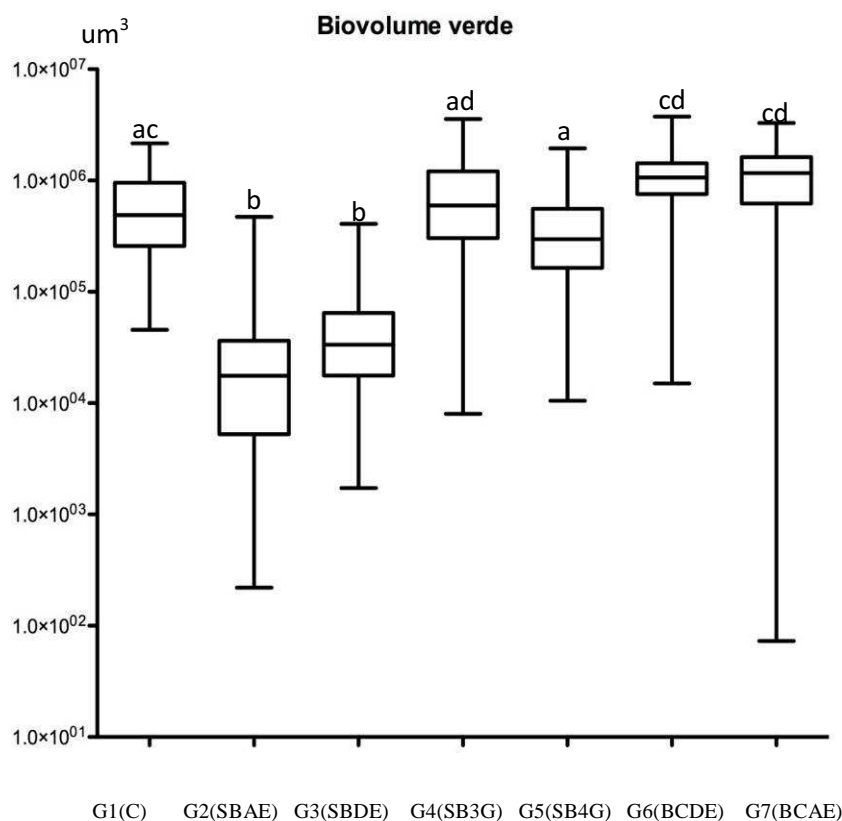
**Tabela 4** - Comparações entre os valores de Biovolume verde em  $\mu\text{m}^3$  para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.

Grupos	Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ )
G1(C) X G2(SBAE)	S
G1(C) X G3(SBDE)	S
G1(C) X G4(SB3G)	NS
G1(C) X G5(SB4G)	NS
G1(C) X G6(BCDE)	NS
G1(C) X G7(BCAE)	NS
G2(SBAE) X G3(SBDE)	NS
G2(SBAE) X G4(SB3G)	S
G2(SBAE) X G5(SB4G)	S
G2(SBAE) X G6(BCDE)	S
G2(SBAE) X G7(BCAE)	S
G3(SBDE) X G4(SB3G)	S
G3(SBDE) X G5(SB4G)	S
G3(SBDE) X G6(BCDE)	S
G3(SBDE) X G7(BCAE)	S
G4(SB3G) X G5(SB4G)	NS
G4(SB3G) X G6(BCDE)	NS
G4(SB3G) X G7(BCAE)	NS
G5(SB4G) X G6(BCDE)	S
G5(SB4G) X G7(BCAE)	S
G6(BCDE) X G7(BCAE)	NS

S- Significativo

NS- Não Significativo

Os valores para o Biovolume verde em  $\mu\text{m}^3$  (células viáveis) de cada grupo estão apresentados na figura 21.



**Figura 21-** Box plots dos valores de Biovolume verde em  $\mu\text{m}^3$  indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si.

#### 4.2.3 Cobertura do substrato %

Os valores de mediana, média, máximo e mínimo da Cobertura do substrato em termos de porcentagem estão apresentados na tabela 5.

**Tabela 5** - Mínimo, Mediana, Máximo e Média dos valores de Cobertura do substrato em %.

Grupos	G1(C)	G2(SBAE)	G3(SBDE)	G4(SB3G)	G5(SB4G)	G6(BCDE)	G7(BCAE)
Mínimo	0,921	0,006	0,044	0,593	0,486	0,794	3,199
Mediana	4,399	0,451	0,826	3,272	3,066	9,429	9,459
Máximo	14,900	6,915	7,651	11,090	11,820	36,420	19,560
Média	5,089	0,885	1,189	3,832	3,471	10,810	10,260

Cobertura do substrato em %.

N=8 espécimes em cada grupo

Na tabela 6 estão apresentadas as comparações entre os grupos pelo teste de comparação múltipla de Dunn para os valores de Cobertura do Substrato em termos de porcentagem. Considerando as medianas, os valores de Cobertura do substrato variaram de 0,451% a 9,459%. Os valores mais baixos para esse parâmetro estudado foram encontrados para os grupos G2(SBAE) e G3(SBDE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0.05$ ), mas apresentaram em relação a todos os outros grupos ( $P < 0.05$ ). Os valores mais altos foram encontrados para os grupos G6(BCDE) e G7(BCAE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0.05$ ), mas apresentaram em relação a todos os outros grupos ( $P < 0.05$ ). Os grupos G1(C), G4(SB3G) e G5(SB4G) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0.05$ ) e apresentaram valores mais baixos do que os grupos G6(BCDE) e G7(BCAE), de maneira estatisticamente significativa ( $P < 0.05$ ).

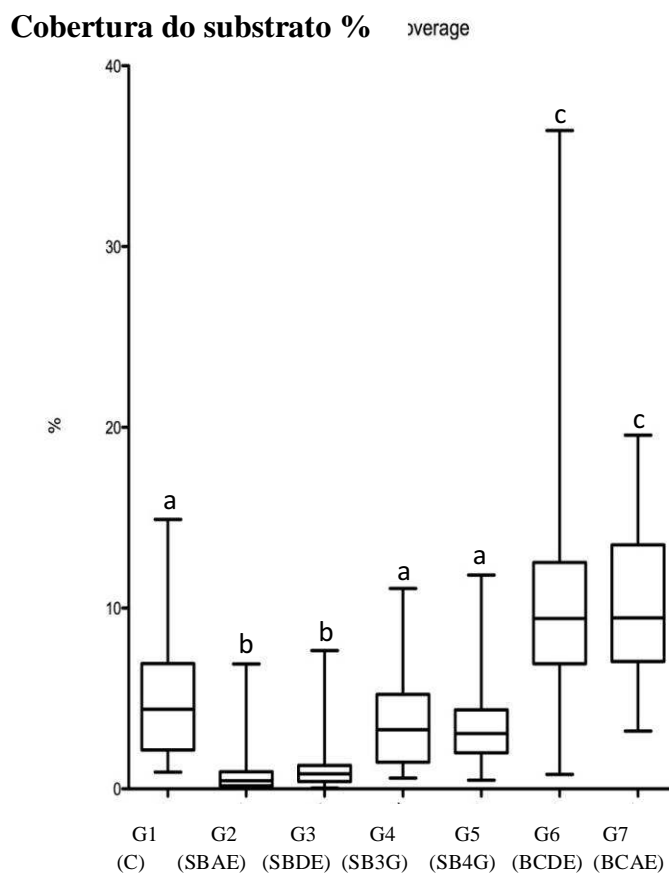
**Tabela 6-** Comparações entre os valores de Cobertura do Substrato em % para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.

Grupos	Diferença estatisticamente Significativa ( $p < 0.05$ )
G1(C) X G2(SBAE)	S
G1(C) X G3(SBDE)	S
G1(C) X G4(SB3G)	NS
G1(C) X G5(SB4G)	NS
G1(C) X G6(BCDE)	S
G1(C) X G7(BCAE)	S
G2(SBAE) X G3(SBDE)	NS
G2(SBAE) X G4(SB3G)	S
G2(SBAE) X G5(SB4G)	S
G2(SBAE) X G6(BCDE)	S
G2(SBAE) X G7(BCAE)	S
G3(SBDE) X G4(SB3G)	S
G3(SBDE) X G5(SB4G)	S
G3(SBDE) X G6(BCDE)	S
G3(SBDE) X G7(BCAE)	S
G4(SB3G) X G5(SB4G)	N
G4(SB3G) X G6(BCDE)	S
G4(SB3G) X G7(BCAE)	S
G5(SB4G) X G6(BCDE)	S
G5(SB4G) X G7(BCAE)	S
G6(BCDE) X G7(BCAE)	N

S- Significativo

NS- Não Significativo

Os valores para a Cobertura do Substrato em % de cada grupo estão apresentados na figura 22.



**Figura 22-** Box plots dos valores de Cobertura do substrato em % indicando valor mínimo, máximo e mediana. Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si.

#### 4.2.4 Porcentagem de células verdes

Os valores de mediana, média, máximo e mínimo da Porcentagem de células verdes % estão apresentados na tabela .

**Tabela 7-** Mínimo, Mediana, Máximo e Média dos valores de Porcentagem de células verdes %.

Grupos	G1(C)	G2(SBAE)	G3(SBDE)	G4(SB3G)	G5(SB4G)	G6(BCDE)	G7(BCAE)
Mínimo	69,61	22	49,93	72,47	70,14	90,06	67,63
Mediana	98,53	94,13	93,51	97,34	97,61	97,04	95,42
Máximo	99,97	100	100	99,92	99,90	100,0	99,94
Média	96,64	89,10	89,40	94,48	95,27	96,77	93,69

Porcentagem de células verdes %.  
N=8 espécimes em cada grupo

Na tabela 8 estão apresentadas as comparações entre os grupos pelo teste de comparação múltipla de Dunn para os valores de Porcentagem de células verdes. Considerando as medianas, os valores de Porcentagem de células verdes variaram de 93,51% a 98,53%. Todos os grupos apresentaram valores elevados para esse parâmetro estudado, sendo os mais altos encontrados nos grupos G1(C), G4(SB3G), G5(SB4G) e G6(BCDE), que não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $P > 0.05$ ). Houve diferença estatisticamente significativa na comparação dos grupos G1(C)/G2(SBAE), G1(C)/G3(SBDE), G1(C)/G7(BCAE), e G3(SBDE)/G6(BCDE) ( $P < 0.05$ ).

**Tabela 8-** Comparações entre os valores de Porcentagem de Células Verdes % para os diferentes grupos avaliados e significância estatística.

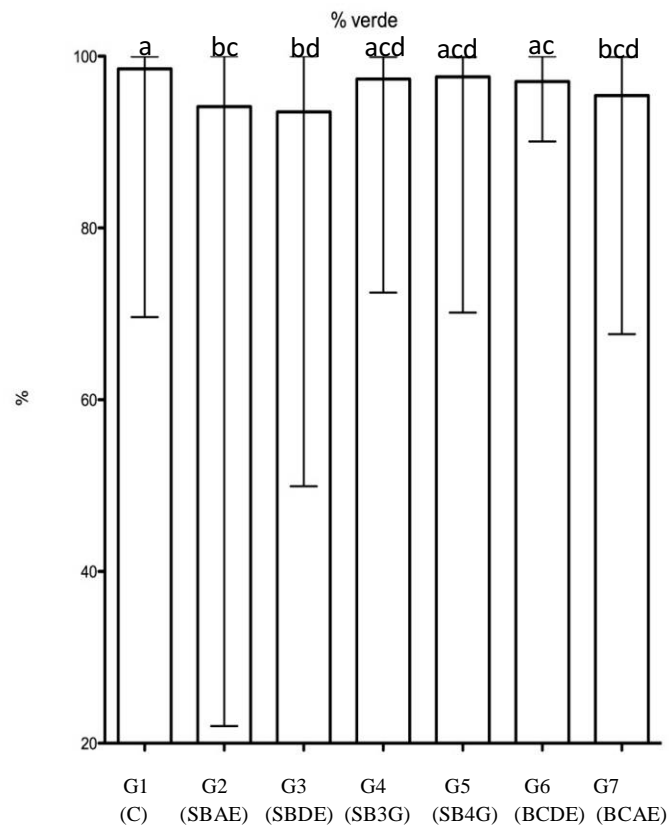
Grupos	Diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ )
G1(C) X G2(SBAE)	S
G1(C) X G3(SBDE)	S
G1(C) X G4(SB3G)	NS
G1(C) X G5(SB4G)	NS
G1(C) X G6(BCDE)	NS
G1(C) X G7(BCAE)	S
G2(SBAE) X G3(SBDE)	NS
G2(SBAE) X G4(SB3G)	NS
G2(SBAE) X G5(SB4G)	NS
G2(SBAE) X G6(BCDE)	NS
G2(SBAE) X G7(BCAE)	NS
G3(SBDE) X G4(SB3G)	NS
G3(SBDE) X G5(SB4G)	NS
G3(SBDE) X G6(BCDE)	S
G3(SBDE) X G7(BCAE)	NS
G4(SB3G) X G5(SB4G)	NS
G4(SB3G) X G6(BCDE)	NS
G4(SB3G) X G7(BCAE)	NS
G5(SB4G) X G6(BCDE)	NS
G5(SB4G) X G7(BCAE)	NS
G6(BCDE) X G7(BCAE)	NS

S- Significativo

NS- Não Significativo

Os valores para a Porcentagem de células verdes % de cada grupo estão apresentados na figura 23.

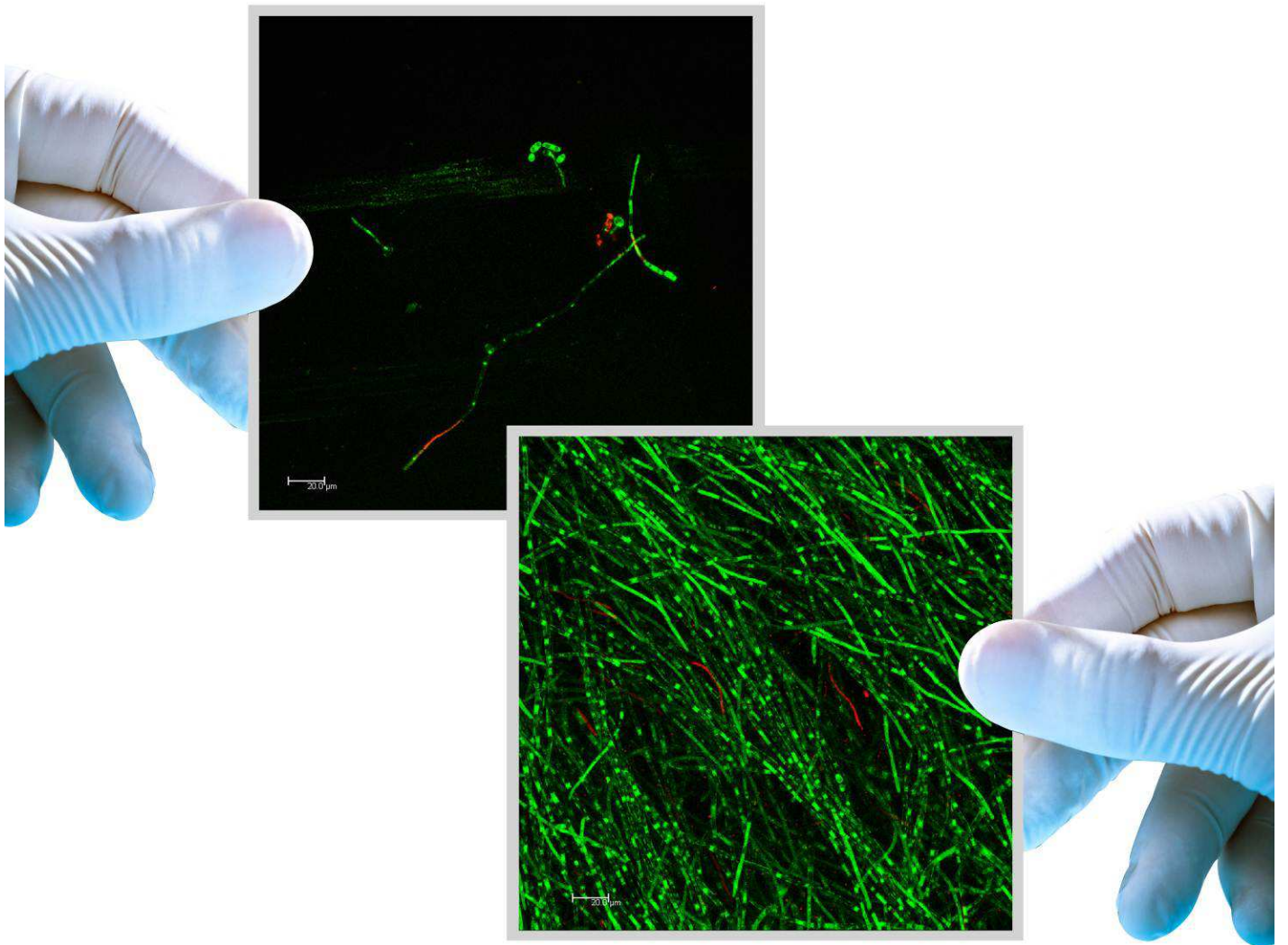




**Figura 23-** Gráfico dos valores de Porcentagem de células verdes % indicando valor mínimo, máximo e mediana.

Grupos com pelo menos uma letra em comum não possuem diferença estatisticamente significativa entre si. Grupos com ausência de pelo menos uma letra em comum possuem diferença estatisticamente significativa entre si.





## 5 *Discussão*



---

---

## 5 DISCUSSÃO

O objetivo desse estudo foi identificar as modificações realizadas na resina acrílica utilizada que podem prevenir ou reduzir a formação de biofilme de *Candida albicans* na sua superfície. De acordo com Chandra et al. (2005) uma abordagem para prevenir ou reduzir a formação de biofilme em biomateriais é modificar a química de suas superfícies através da alteração da composição química dos substratos. Dentro deste contexto, alguns autores relatam propriedades antimicrobianas para os adesivos à base de cianoacrilato (HUNTER, 1976; PALMIERI, 1994; KIMMID, 2000; BLUM, 1975; HOWEL, 1995; HOWELL et al., 1995; SHAPIRO; DINSMORE; NORTH, 2001). Tendo em vista a capacidade antimicrobiana deste produto, optou-se pela utilização da Super Bonder® tanto pincelada na superfície do corpo de prova quanto incorporada na resina acrílica. A quantidade de adesivo incorporado à resina foi decidido após a confecção de um estudo piloto onde, por meio do microscópio confocal a laser, concluiu-se que a incorporação de 1 gota e 2 gotas do adesivo não exercia influência sobre a formação do biofilme. A escolha de utilizar o polidor líquido Biscover® teve como objetivo comparar a Super Bonder® com um produto disponível comercialmente e recomendado pelo fabricante para polimento líquido de resina acrílica.

Foi observado que para os grupos tratados com a Super Bonder® e o Biscover® pincelados em sua superfície, o fato de esses produtos terem sido aplicados antes ou após a esterilização dos corpos de prova não promoveu nenhuma diferença entre os grupos de mesmo tratamento, ou seja, o G2 (SBAE) foi semelhante ao G3 (SBDE) e o G6 (BCDE) foi semelhante ao G7(BCAE), mostrando que o processo de esterilização não promoveu alterações na camada do produto aplicado na superfície da resina acrílica. Quando os corpos de prova foram enviados para a esterilização, houve um período de 15 dias entre o envio e o recebimento dos mesmos esterilizados. Ou seja, mesmo passado esse tempo, os produtos aplicados nos grupos antes da esterilização não perderam a sua efetividade, o que não está de acordo com os estudos de Howell et al. (1995) e Shapiro, Dinsmore e North (2001) que mostraram que o 2-octil-cianoacrilato é efetivo como uma barreira antimicrobiana durante as primeiras 72 horas após a aplicação.

Foi observado que, de todos os corpos de prova modificados, os que receberam a Super Bonder® em sua superfície, G2(SBAE) e G3(SBDE) foram os únicos que significativamente reduziram a formação de biofilme de *Candida albicans*. Os mecanismos

---

---

que envolvem a incapacidade da *C. albicans* em formar biofilme nos corpos de prova que receberam esse adesivo são desconhecidos. De acordo com Pereira-Cenci et al. (2008) há evidências de que as espécies de *Candida* são capazes de aderir às resinas acrílicas das próteses, o que é considerado como o primeiro passo no processo de infecção. Essa aderência está diretamente relacionada às propriedades superficiais do substrato polimérico como energia livre de superfície, hidrofobicidade e rugosidade. A energia livre de superfície tem sido considerada um dos principais fatores relacionados à estomatite protética, sendo definida como a interação entre as forças de coesão e de adesão. Quanto maior a energia livre de superfície, maior a adesão celular. Quanto maior a hidrofobicidade dos microorganismos maior é a aderência às resinas acrílicas. A rugosidade superficial determina diretamente a aderência inicial do microorganismo, o desenvolvimento do biofilme e a colonização microbiana. Superfícies mais rugosas geralmente apresentam maior número de células, pois podem servir como um reservatório microbiano, aumentando a retenção do biofilme e sua resistência às forças de cisalhamento da escovação. Como não foi o objetivo desse estudo, essas propriedades inerentes ao substrato não foram avaliadas, no entanto, não se pode descartar a possibilidade de a camada de Super Bonder® ter alterado alguma(s) dessas propriedades e por isso ter alterado a adesão das células fúngicas ao substrato. Como consequência, essas células não aderiram fortemente à camada de Super Bonder® e foram provavelmente desprendidas durante as manipulações realizadas para a análise no microscópio confocal.

Somado a isso, alguns autores relatam propriedades antimicrobianas para os adesivos a base de cianoacrilato (HUNTER, 1976; PALMIERI, 1994; KIMAIID, 2000; BLUM, 1975; HOWEL, 1995; HOWELL et al., 1995; SHAPIRO; DINSMORE; NORTH, 2001), o que poderia explicar esse comportamento favorável da Super Bonder®. Palmieri (1994) gotejou a cola de etil-cianoacrilato diretamente sobre placas com ágar sangue previamente semeadas com *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*: a inibição do crescimento bacteriano foi observada após 24 horas. Kimaid et al. (2000) afirmaram que em todos os períodos de observação da pesquisa, na qual foi utilizado o etil-cianoacrilato, não foi observado qualquer sinal de infecção bacteriana. Diante disso os autores acreditam que o etil-cianoacrilato também poderia possuir alguma propriedade antimicrobiana, uma vez que se tem descrito na literatura que o monômero dos cianoacrilatos apresenta uma forte propriedade bactericida (HUNTER,1976). Essa possível propriedade antimicrobiana dos cianoacrilatos pode ser a explicação para o reduzido número de células fúngicas na forma de hifa (patogênica) para os

---

grupos que receberam a Super Bonder® em sua superfície, já que a maioria das células se apresentaram na forma de levedura (inócua).

Os grupos que receberam a Super Bonder® incorporada na resina acrílica, G4(SB3G) e G5(SB4G), não se comportaram de maneira tão favorável quanto os grupos G2(SBAE) e G3(SBDE), que tiveram o adesivo como cobertura do substrato. Provavelmente, o aprisionamento das moléculas do etil-cianocrilato, quando misturado à resina, impediu seu efeito sobre a adesão microbiana, tal como foi visto quando o adesivo Super Bonder® foi pincelado. Alguns estudos estão de acordo com esses resultados, pois avaliaram substâncias que possuíam efeito de inibição contra a *C. albicans* e a partir do momento em que foram incorporadas à resina acrílica perderam o seu efeito. Thomas e Nutt (1978) estudaram o efeito *in vitro* do condicionador de tecido Visco-gel modificado pela incorporação de nistatina ou anfotericina B sobre o crescimento de *C. albicans*, *C. Krusei* e *C. tropicalis*. Os resultados mostraram que a anfotericina B tornou-se ineficaz quando misturada ao Visco-gel, mas quando utilizada isoladamente permaneceu ativa na inibição do crescimento fúngico. O trabalho de Quinn (1985) estudou o efeito da associação de miconazol (Daktarin) e cetoconazol (Nizoral) a três condicionadores teciduais (Ivoseal, Viscogel e Fitt) na inibição do crescimento de *C. albicans*. Como parâmetro para comparação, foi utilizada a incorporação de nistatina e anfotericina B aos materiais resilientes. Os resultados obtidos comprovaram a ineficácia da anfotericina B como agente antifúngico quando incorporada a materiais resilientes. Cada produto incorporado à resina possui seu próprio nível de liberação, o qual é afetado de forma significativa por sua absorção e distribuição no interior do material polimérico (JENQUIN et al., 1990; BROOK; VAN NOORT, 1985). Brook e Van Noort (1985) relataram que a liberação do produto incorporado na resina acrílica é dependente da fragilidade da matriz polimérica, da quantidade do produto e da porosidade do material. Outras pesquisas com quantidades maiores do adesivo incorporado à resina poderiam ser realizadas com o objetivo de verificar se uma maior concentração do adesivo poderia exercer um maior controle sobre a formação do biofilme.

Os resultados desfavoráveis encontrados para o Biscover® não estão de acordo com o estudo de Budtz-Jorgensen e Kaaber (1986), os quais estudaram *in vivo* um sistema de polimento líquido aplicado nas superfícies internas das próteses totais e observaram uma diminuição no acúmulo de biofilme nessas superfícies durante a primeira semana de utilização. Davidi et al. (2007) também mostraram que a formação de biofilme *in vivo* em restaurações provisórias de polimetil metacrilato (PMMA) foi significativamente reduzida

---

quando cobertas com adesivo resinoso. Além disso, o uso da resina para polimento líquido Biscover® como o agente de cobertura preveniu a formação de biofilme nessas restaurações. Já os achados de Sesma et al. (2005) estão de acordo com esse estudo. Os autores avaliaram *in vivo* a eficácia do polidor líquido fotopolimerizável Palaseal®, (Heraeus / Kulzer, Wehrheim, Germany) em modificar a colonização de placa das dentaduras. Os achados desse experimento clínico mostraram que o polimento líquido da superfície interna da dentadura não preveniu a colonização fúngica.

É interessante discutir o comportamento do Biscover® nesse estudo, pois, além de não ter conseguido controlar a formação de biofilme sobre o substrato, quando o parâmetro avaliado foi a cobertura do substrato, esse produto foi mais desfavorável do que a resina acrílica sem tratamento. O fabricante afirma que o Biscover® é uma resina fluida e que a camada formada como resultado de sua aplicação é fina. Por um lado, o desejável é uma camada fina do polidor líquido, já que uma camada mais espessa poderia levar a uma desadaptação da prótese. Por outro lado, uma camada muito fina pode ter dificuldade de preencher as irregularidades ou defeitos da superfície interna da prótese total. Esse problema pode ter acontecido nesse estudo, já que previamente à aplicação do Biscover®, os corpos de prova foram lixados e talvez, por ser muito fluido, esse produto não foi capaz de compensar as irregularidades criadas na superfície da resina acrílica, favorecendo a adesão das células de *Candida albicans*, já que é sabido que a rugosidade superficial é um fator diretamente ligado ao acúmulo de biofilme. Alguns autores também têm mostrado que os polidores líquidos não são capazes de compensar todas as irregularidades de superfície. (ROEDER, 2000; DOS SANTOS et al., 2007; DICKINSON; LEINFELDER, 1990). Zimmerli et al. (2011), constataram que dos polidores líquidos utilizados em seu estudo, o Biscover® e o Lasting Touch® não foram capazes de compensar todas as irregularidades do corpo de prova, então eles concluíram que quando esses dois polidores líquidos fossem aplicados, seria recomendável realizar previamente um polimento mecânico refinado. No entanto, para prótese total esse procedimento seria inviável, já que não se pode realizar um polimento mecânico da superfície interna da prótese, pois o mesmo causaria uma desadaptação da mesma, ou seja, parece ser sensato afirmar que o Biscover® não é muito indicado para polimento líquido de próteses totais, já que para sua eficácia, às vezes se faz necessário um polimento mecânico prévio.

Outra hipótese é que o fabricante afirma que o Biscover® pertence a uma nova geração de polidores líquidos que, diferentemente da geração antiga, não apresenta uma

---



---

---

camada pegajosa inibida pelo ar após a sua polimerização. No entanto, tal fato pode ter ocorrido e isso poderia favorecer o acúmulo de biofilme, explicando os resultados obtidos nesse estudo. O estudo de Guler et al. (2009) indicou que o uso desse sistema de polimento pareceu aumentar a pigmentação dos espécimes e sugere que isso pode ter acontecido devido à camada pegajosa inibida pelo ar.

Quando o parâmetro avaliado foi a cobertura do substrato, o grupo controle apresentou um melhor comportamento em relação aos grupos modificados pelo Biscover®. Os estudos de Nikawa et al. (1994) e Nikawa, Yamamoto e Hamada (1995) revelaram que materiais acrílicos condicionadores de tecidos disponíveis comercialmente e materiais macios para reembasamento de dentaduras possuem efeitos antifúngicos latentes, os quais poderiam ser atribuídos aos componentes do líquido e pó dos seus ingredientes. No estudo de Nikawa et al. (2000), os autores também demonstraram que os componentes, particularmente os do líquido da resina acrílica para dentaduras, compreendendo o metil metacrilato (MMA), a hidroquinona (HQ), o peróxido de benzoíla (BP) e o *N-N*-dimetil-*p*-toluidina (DMPT) inibiram efetivamente o crescimento fúngico. Como os fabricantes não revelam por completo a composição de seus materiais, talvez a resina acrílica autopolimerizável para reembasamento utilizada nesse estudo (New Truliner) também possua de alguma maneira propriedades antifúngicas, tornando melhor a compreensão dos resultados obtidos.

Quando o parâmetro avaliado foi a porcentagem de células verdes, para todos os grupos, nenhuma das modificações realizadas na resina acrílica foram eficientes em tornar as células inviáveis, o que era esperado, já que o objetivo do trabalho não era testar nenhum tipo de tratamento que alterasse a viabilidade das células, e sim fosse eficiente em impedir ou reduzir a aderência e formação de biofilme pelas mesmas. Essa é uma questão bem interessante, pois, como constatado nesse estudo, a Super Bonder® teve uma alta capacidade de reduzir a formação de biofilme sobre os corpos de prova testados, apesar de a pequena quantidade de células remanescentes nas superfícies terem sido praticamente todas viáveis. Talvez o mecanismo de ação desse adesivo seja mais favorável do que a utilização de diversos tratamentos de desinfecção propostos para a resina acrílica, já que muitos deles, apesar de terem a capacidade de tornar as células inviáveis, não removem essas células da superfície do substrato e sabe-se que a permanência dessas células, mesmo inviáveis, favorece a recolonização da prótese pelas células de *Candida albicans*. Idealmente, a remoção do biofilme somada à redução da viabilidade dos microorganismos que o formam é sempre pretendida no controle do biofilme sobre a prótese total, pois um biofilme residual composto

---

---

por células mortas pode ainda atuar como uma fonte de endotoxinas, permitindo a sua rápida recolonização e provendo proteção para novos patógenos (MEILLER et al., 1999; CHEN; STEWART, 2000; LIAQAT; SABRI, 2008).

É provável que o mecanismo(s) responsável pela inibição da capacidade da *C. albicans* de formar um biofilme intacto nos corpos de prova que receberam a Super Bonder® na superfície seja multifatorial e mostra a necessidade de outras pesquisas, além desse estudo. É possível que essa inibição seja mediada pela prevenção da adesão da *Candida* à superfície do substrato. O estudo da capacidade que a Super Bonder® tem de controlar a formação de biofilme é necessário. Os resultados relatados nesse estudo podem ter implicações clínicas importantes no planejamento de novos materiais que possuem propriedades antibiofilme.

A formação do biofilme é um processo de infecção multifatorial, o qual é também influenciado pelas propriedades físico-químicas da superfície do substrato. (BLOSSEY, 2003). Tem sido relatado que uma superhidrofobicidade e uma superhidrofilicidade das superfícies são propriedades chave para a fabricação de superfícies autolimpantes (HASSEL et al., 2007).

Nos recentes anos, novas superfícies com propriedades autolimpantes têm gerado imenso interesse na pesquisa e desenvolvimento de novos materiais. De fato, se superfícies com propriedades controladas pudessem ser fabricadas, então a busca por superfícies livres de contaminação poderiam se tornar uma realidade há tanto tempo esperada (BLOSSEY, 2003).

O desenvolvimento de materiais dentários que possuem uma propriedade de superfície autolimpante poderia trazer uma mudança dramática para o campo da odontologia clínica. Por exemplo, tais materiais de cobertura de superfície, quando utilizados em materiais restauradores, materiais para bases de dentaduras e implantes, poderiam aumentar a longevidade dos mesmos por causa da proteção contra o ataque de microorganismos. Contudo, até o momento, um material dentário com tal propriedade desejável e benéfica ainda não está disponível (BLOSSEY, 2003).

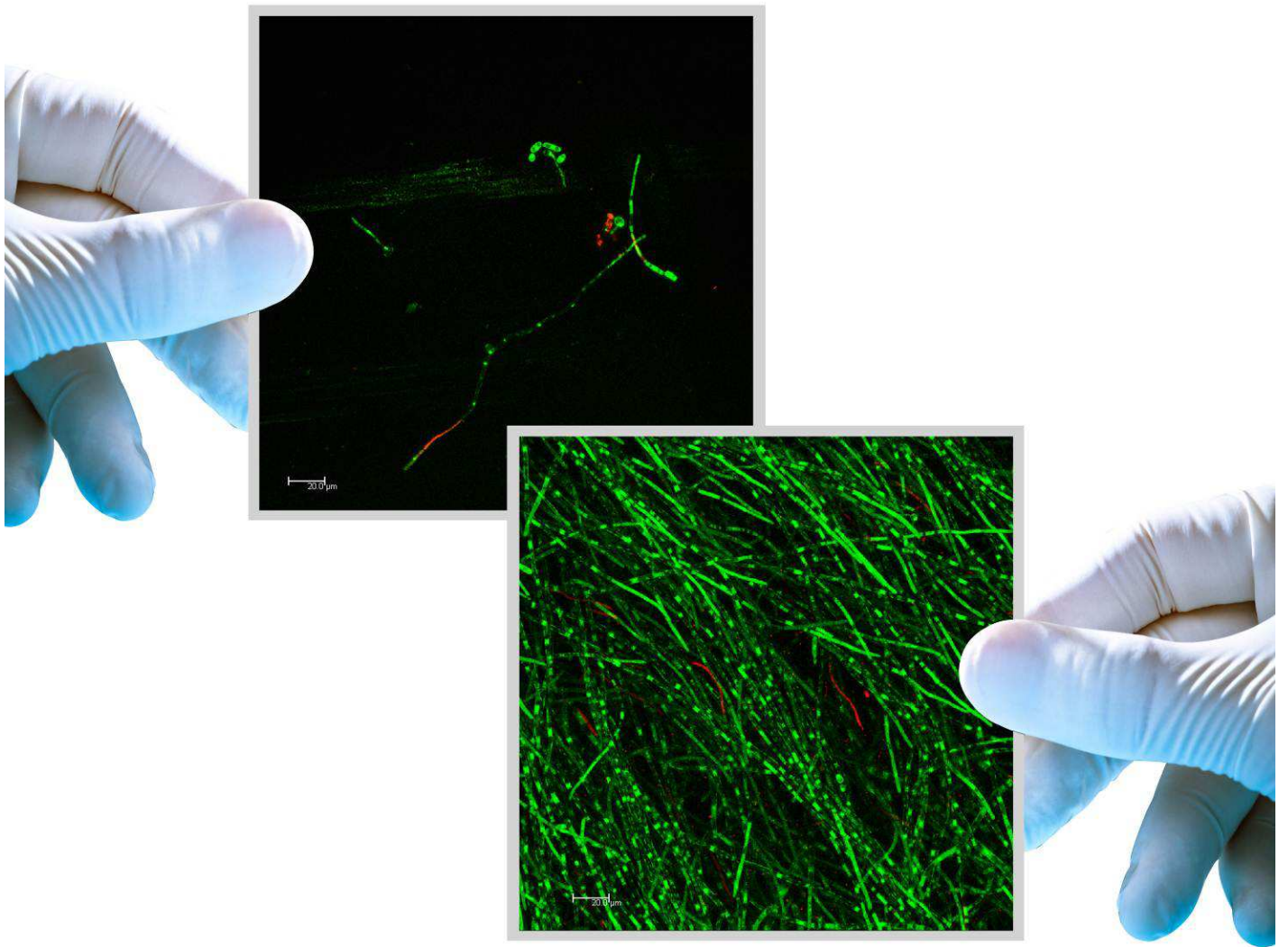
Ainda é precipitada a indicação da utilização da Super Bonder® como polidor líquido para aplicações clínicas em próteses totais. No entanto, esse estudo foi o primeiro passo para o desenvolvimento de um novo material de cobertura com a noção de propriedade de superfície autolimpante em odontologia. Posteriormente, outros estudos *in vitro* deveriam ser realizados para melhorar as propriedades e durabilidade do material e elucidar o comportamento da

---

Super Bonder® frente ao desenvolvimento de biofilmes utilizando diversas espécies de bactérias e fungos.

Os dados desse estudo demonstraram que as modificações de superfície desses materiais com a Super Bonder® aplicada na superfície podem ser uma abordagem potencialmente útil para reduzir ou controlar a formação do biofilme em próteses totais.





*6 Conclusões*



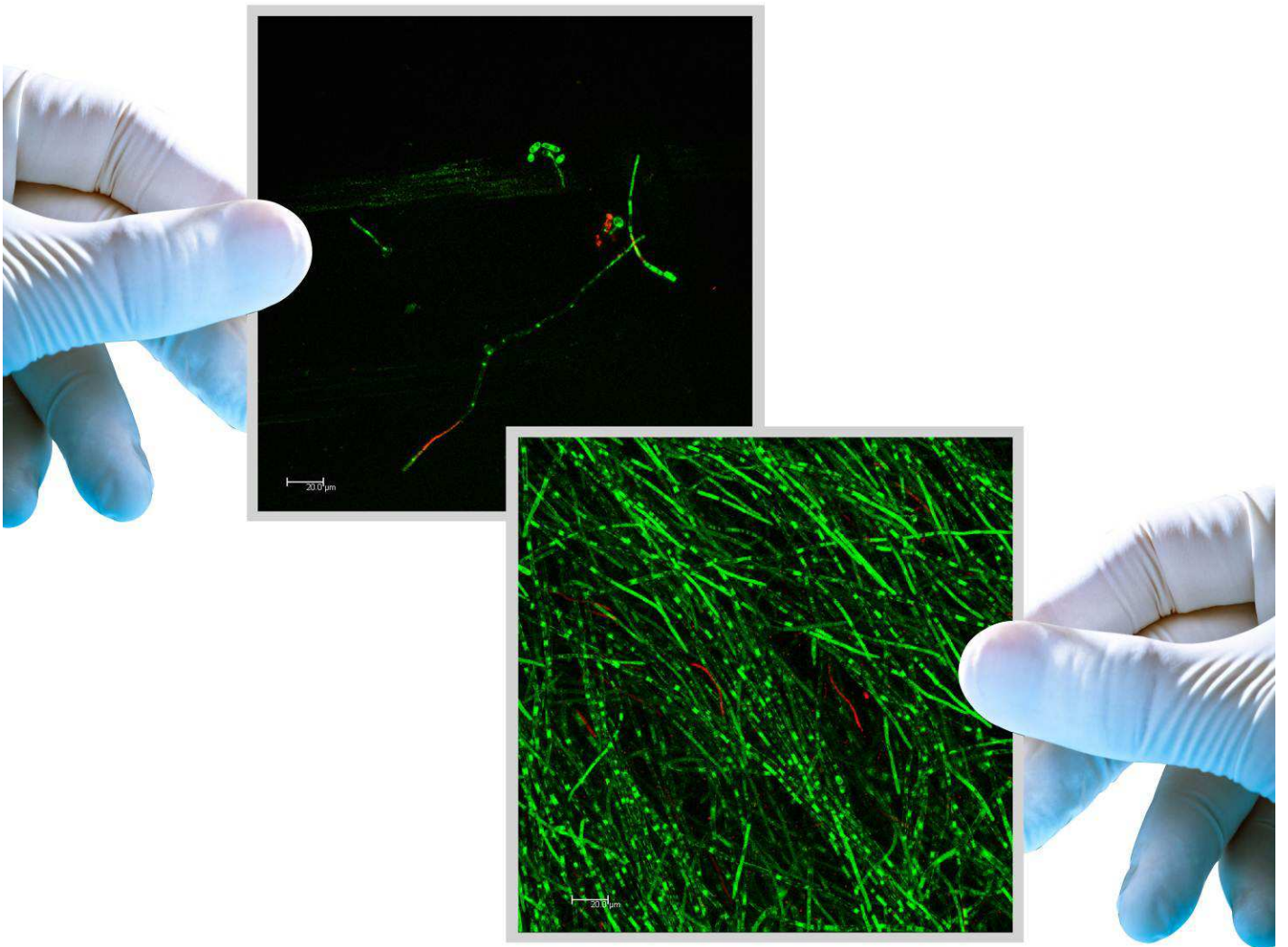
## 6 CONCLUSÕES

Considerando a metodologia empregada e as limitações desse estudo *in vitro* foi possível concluir que:

- A aplicação da camada de Super Bonder® na superfície rugosa da resina acrílica foi capaz de reduzir de maneira significativa a formação de biofilme de *Candida albicans*.
  - As modificações da resina acrílica através da aplicação superficial do Biscover® e da incorporação da Super Bonder® na sua estrutura não ofereceram vantagens em relação ao grupo controle, que não recebeu tratamento.
  - Nenhuma das modificações realizadas nos corpos de prova se mostrou eficaz em mudar a viabilidade das células fúngicas, pois a maioria das células remanescentes permaneceram viáveis.
  - O polidor líquido Biscover® não se comportou da maneira esperada, já que não alcançou o objetivo para o qual foi desenvolvido, que é justamente tornar a superfície coberta por ele menos propícia para o desenvolvimento de biofilme.
  - Não houve diferença quanto ao tempo de aplicação da Super Bonder® e sua eficiência, já que os corpos de prova que receberam o produto antes da esterilização se comportaram de maneira semelhante aos que receberam o produto depois de esterilizados.
- 
-







*Referências*



---

---

## REFERÊNCIAS

- Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J*. 2002; 78(922):455-9.
- Alberts B. *Biologia molecular da célula*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.
- Albuquerque DS, Gominho LF, Santos RA. Histologic evaluation of pulpotomy performed with ethyl-cyanoacrylate and calcium hydroxide. *Braz Oral Res*. 2006; 20(3):226-30.
- Araújo GG, Cavada LCM, Machado IG, Roth MGM, Formolo E. Avaliação da genotoxicidade do etil-cianoacrilato, quando usado junto ao isolamento absoluto, através do teste do micronúcleo: um estudo in vivo. *RPG:ver Pós-Grad*. 2003;10:141-7.
- Arendorf TM, Walker DM. Oral candidal populations in health and disease. *Br Dent J*. 1979;147(10):267-72.
- Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil*. 1987;14(3): 217-27.
- Arkell S, Shinnick A. Update on oral candidosis. *Nurs Times*. 2003;99(48):52-3.
- Azevedo CL, Marques MM, Bombana AC. Cytotoxic effects of cyanoacrylates used as retrograde filling materials. An *in vitro* analysis. *Pesquis Odontol Bras*. 2003;17(2):113-8.
- Bady S, Wongworawat M. Effectiveness of antimicrobial incise drapes versus cyanoacrylate barrier preparations for surgical sites. *Clin Orthop Relat Res*. 2009;467:1674-1677.
- Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martinez F, Aldape-Barríos B, Quindos G, Sanchez-Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10 Suppl 1:E27-39.
- Banting DW, Hill SA. Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. *Spec Care Dentist*. 2001;21(1):4-8.
- Baptista RRC. Los cianoacrilatos em cirurgia. *Ver Sanid Milit Mex*. 1995;49(3):55-58.
- Barbeau J, Seguin J, Goulet JP, de Koninck L, Avon SL, Lalond B, et al. Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture related stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95(1):51-9.
- Barbosa VT. Emprego do etil-cianoacrilato ou do octil-cianoacrilato no preenchimento de lesões corneais, após ceratectomia lamelar em coelhos [dissertação]. Jaboticabal (SP): Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP;2007.
- 
-

- Barbosa RPS, Santos RL, Gusmão ES. Terapias para controle de lesões não cariosas hipersensíveis. *Odontologia.Clín.-Científ.*2005;4(3):171-6.
- Barghi N, Alexander C. A new surface sealant for polishing composite resin restorations. *Compend Contin Educ Dent.*2003;24:30.
- Barkhordar RA, Javid B, Abbasi J, Watanabe LG. Cyanoacrylate as a retrofilling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988; 65(4):468-73.
- Barnabe W, de Mendonca Neto T, Pimenta FC, Pegoraro LF, Scolaro JM. Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehabil* 2004;31(5):453-9.
- Baysan A, Whiley R, Wright PS. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*. *J Prosthet Dent.* 1998;79(4):454-8.
- Beech DR. Bonding of alkyl 2-cyanoacrylates to human dentin and enamel. *J Dent Res.* 1972;51(5):1438-42.
- Bertrand MF, Leforestier E, Muller M, Lupi-Pégurier L, Bolla M. Effect of surface penetrating sealant on surface texture and microhardness of composite resins. *J Biomed Mater Res.* 2000; 53:658–663.
- Bhaskar SN. Effect of butyl cyanoacrylate on the healing of extraction wounds. *Oral Surg.Oral Med. Oral Pathol.* 1967;24:604-16.
- Bhaskar SN, Beasley JD, Ward JP, Cutright DE. Human pulp capping with isobutyl cyanoacrylate. *J Dent Res.* 1972;51(1):58-61.
- Bhaskar SN, Jacoway JR, Margetis PM, Leonard F, Pani KC. Oral tissue response to chemical adhesives (cyanoacrylates). *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology.* 1966;22(3):394-404.
- Bizerra FC, Nakamura CV, de Poersch C, Estivalet Svidzinski TL, Borsato Quesada RM, Goldenberg S, Krieger Ma, Yamada-Ogatta SF. Characteristics of biofilm formation by *Candida tropicalis* and antifungal resistance. *FEMS Yeast Res.* 008;8(3):442-50.
- Blossey R. Self-cleaning surfaces -virtual realities. *Nat Mater.* 2003; 2: 301-306.
- Blum GN, Nolte NA, Robertson P. In vitro determination of the antimicrobial properties of two cyanoacrylate preparations. *J Dent Res.*1975;54:500-3.
- Bocca M, Coscia D, Bottalico L, Delpiano IM. New suture techniques in oral surgery. Description and comparison with traditional sutures. *Minerva Stomatol.* 1999;48(12):633-7.
- 
-

---

---

Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater.* 1997;13(4):258-69.

Borges APB, Sampaio R, Pompermayer LG, Oliveira H, Rezende CMF, Santos BM. Emprego de adesivo butil-2-cianoacrilato na fixação de esquirolas em fraturas de fêmur de cães. Aspectos radiológicos. *Arq.Bras. Med. Vet. Zootec.* 1992;44:29-41.

Brook IM, Van Noort R. Controlled delivery of drugs. A review of polymer-based devices. *Br Dent J.* 1984;157(1):11-5.

Budtz-Jorgensen E. Denture stomatitis.3. Histopathology of trauma-and-candida-induced inflammatory lesions of the palatal mucosa. *Acta Odontol Scand.* 1970;28(5):551-79.

Budtz-Jorgensen E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. *Scand J Dent Res* 1974;82(2):151-90.

Budtz-Jorgensen E, Stenderup A, Grabowski M. An epidemiologic study of yeasts in elderly denture wearers. *Community Dent Oral Epidemiol* 1975;3(3):115-9.

Budtz-Jorgensen E. Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. *J Am Dent Assoc.* 1978;96(3):474-9.

Budtz-Jorgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. *J Prosthet Dent.* 1979;42(6):619-23.

Budtz-Jorgensen E, Kaaber S. Clinical effects of glazing denture acrylic resin bases using na ultraviolet curing method. *Scandinavian journal of dental research.*1986;94:569-574.

Budtz-Jorgensen E, Holmstrup P, Krogh P. Fluconazole in the treatment of *Candida*-associated denture stomatitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32(12):1859-63

Budtz-Jorgensen E. Histopathology, immunology, and serology of oral yeast infections. Diagnosis of oral candidosis. *Acta Odontol Scand.* 1990;48(1):37-43.

Budtz-Jorgensen E, Mojon P, Banon-Clément JM, Baehni P. Oral candidosis in long-term hospital care: comparasion of edentalous and dentale subjects. *Oral Dis.* 1996;2(4):285-90.

Budtz-Jorgensen E, Mojon P, Rentsch A, Deslauriers N. Effects of an oral health program on the occurrence of oral candidosis in a long-term care facility. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000;28(2):141-9.

Bunetel L, Bonnaure-Mallet M. Oral pathoses caused by *Candida albicans* during chemotherapy:update and development mechanisms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82(2):161-5.

---

---

Burford-Mason AP, Weber JC, Willoughby JM. Oral Carriage of *Candida albicans*, ABO blood group and secretor status in healthy species. *J Med Vet Mycol.*1988;26(1):49-56.

Campos MS, Marchini L, Bernardes LA, Paulino LC, Nobrega FG. Biofilm microbial communities of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(5):419-24.

Catalan A, Herrera R, Martinez A. Denture plaque and palatal mucosa in denture stomatitis: scanning electron microscopic and microbiologic study. *J Prosthet Dent.* 1987;57(5):581-6.

Ceballos A, Gonzalez-Moles M, Urquia M. [Denture stomatitis. Its relation to *Candida albicans*]. *Av Odontoestomatol.*1990;6(2):151-4.

Chan EC, Iugovaz I, Siboo R, Bilyk M, Barolet R, Amsel R, et al. Comparison of two popular methods for removal and killing of bacteria from dentures. *J Can Dent Assoc.* 1991;57(12):937-9.

Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol.* 2001a.Sep;183(18):5385-94.

Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res.* 2001 b;80(3):903-8.

Chandra J, Patel JD, Li J, Zhou G, Mukherjee PK, McCormick TS, Anderson JM, Ghannoum Ma. Modification of surface properties of biomaterials influences the ability of *Candida albicans* to form biofilms. *Appl Environ Microbiol.*2005;71(12):8795-8801.

Chandra J, Zhou G, Ghannoum MA. Fungal biofilms and antimycotics. *Curr Drug Targets.* 2005;6(8):887-94.

Chau VB, Saunders TR, Pimsler M, Elfring DR. In-depth disinfection of acrylic resins. *J Prosthet Dent.* 1995;74(3):309-13

Chen X, Stewart PS. Biofilm removal caused by chemical treatments. *Wat. Res.* 2000;34(17):4229-33.

Chen K, Klapper As, Voige H, Priore GDP. A randomized controlled study comparing two standardized closure methods of laparoscopic port sites. *JSLS.* 2010;14:391-4.

Cilli R, de Mattos MC, Honorio HM, Rios D, de Araujo PA, Prakki A. The role of surface sealants in the roughness of composites after a simulated toothbrushing test. *J Dent.* 2009;37:970-977.

Collis JJ, Stafford GD. A survey of denture hygiene in patients attending Cardiff Dental Hospital. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 1994;3(2):67-71.

---

---

Crockett DN, Ogrady JF, Reade PC. *Candida* species and *Candida albicans* morphotypes in erythematous candidiasis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992;73(5):559-63.

Damgé C, Vranckx H, Balschmidt P, Couvreur P. Poly(alkyl cyanoacrylate) nanospheres for oral administration of insulin. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1997;86(12):1403-9.

Dar-Odeh NS, Shehabi AA. Oral candidosis in patients with removable dentures. *Mycoses.* 2003;46(5-6):187-91.

Davenport JC. The oral distribution of candida in denture stomatitis. *Br Dent J.* 1970;129(4):151-6.

Davenport JC. The denture surface. *Br Dent J.* 1972;133(3):101-5.

Davidi M, Beyth N, Sterer N, Feuerstein O, Weiss EI. Effect of liquid-polish coating on in vivo biofilm accumulation on provisional restorations: part 1. *Quintessence Int.* 2007 ;38(7):591-6.

Davidi MP, Beyth N, Weiss EI, Eilat Y, Feuerstein O, Sterer N. Effect of liquid-polish coating on in vitro biofilm accumulation on provisional restorations: Part 2. *Quintessence International.* 2008;39(7):45-9.

Dickinson GL, Leinfelder KF, Mazer RB, Russell CM. Effect of surface penetrating sealant on wear rate of posterior composite resins. *J Am Dent Assoc.* 1990; 121:251–255

Dickinson GL, Leinfelder KF. Assessing the long-term effect of a surface penetrating sealant. *J Am dent Assoc.* 1993;124:68-72.

Dohmen PM. Antibiotic resistance in common pathogens reinforces the need to minimize surgical site infections. *Journal of Hospital Infection.* 2008;70(52):15-20.

Dongari-Bagtzoglou A, Fidel PL, Jr. The host cytokine responses and protective immunity in oropharyngeal candidiasis. *J Dent Res.* 2005;84(11):966-77.

Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis.* 2001;33(8):1387-92.

Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):167-93.

Dorocka-Bobkowska B, Budtz-Jorgensen E, Wloch S. Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(8):411-5.

dos Santos PH, Pavan S, Consani S, Sobrinho LC, Sinhoreti MA, Filho JN. In vitro evaluation of surface roughness of 4 resin composites after the toothbrushing process and methods to recover superficial smoothness. *Quintessence Int.* 2007;38:247–253.

---

- Dourado E, Fernandes TCA, Feitosa EF, Lopes MJP. Análise Comparativa entre suturas convencionais e adesivos à base de 2-octil-cianoacrilato: revisão de literatura. *Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac.* 2005;5(1):15-20.
- Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis.* 2003;3(11):685-702.
- Emami E, Seguin J, Rompre PH, de Koninck L, de Grandmont P, Barbeau J. The relationship of myceliated colonies of *Candida albicans* with denture stomatitis: an in vivo/in vitro study. *Int J Prosthodont.* 2007;20(5):514-20.
- Endo MS, Costa JV, Natali MRM, Queiroz AF. Efeito in vivo do etil-cianoacrilato como isolamento absoluto em gengiva inserida. *Revista de Odontologia da UNESP.* 2007;36(3):287-292.
- Farah CS, Ashman RB, Challacombe SJ. Oral candidosis. *Clin Dermatol.* 2000;18(5):553-62.
- Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors- a large cohort. *J Oral Rehabil.* 2007;34(6):448-55.
- Fotos PG, Hellstein JW. *Candida* and candidosis. Epidemiology, diagnosis and therapeutic management. *Dent Clin North Am.* 1992;36(4):857-78.
- Freitas JB, Gomez RS, De Abreu MH, Ferreira EFE. Relationship between the use of full dentures and mucosal alterations among elderly Brazilians. *J Oral Rehabil.* 2008;35(5):370-4.
- Gillum AM, Tsay EYH, Kirsch Dr. Isolation of the *Candida albicans* genes for orotidine -59-phosphate decarboxylase by complementation of *S. cerevisiae* *ura3* and *E. coli* *pyrF* mutations. *Mol Gen Genet.* 1984;198(1):179-82.
- Gonsalves WC, Wrightson AS, Henry RG. Common oral conditions in older persons. *Am Fam Physician.* 2008;78(7):845-52.
- Guler AU, Guler E, Yucel AÇ, Ertas E. Effects of polishing procedures on color stability of composite resins. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(2):108-12.
- Haghpanah S, Vafafar A, Golzadeh MH, Ardesliri R, Karimi M. Use of Glubran 2 and Glubran tissue skin adhesive in patients with hereditary bleeding disorders undergoing circumcision and dental extraction. *Ann Hematol.* 2011;90(4):463-8.
- Haghpanah S, Vafafar A, Golzadeh MH, Ardesliri R, Karimi M. Use of Glubran 2 e Glubran tissue skin adhesive in patients with hereditary bleeding disorders undergoing circumcision and dental extraction. *Ann hematol.* 2010;90(4):463-8.
- 
-



- 
- 
- Hassel AW, Milenkovic S, Schürmann U, Greve H, Zaporojtchenko V, Adelung R, Faupel F. Model systems with extreme aspect ratio, tunable geometry, and surface functionality for a quantitative investigation of the Lotus effect. *Langmuir*. 2007; 23: 2091-2094.
- Hawser SP, Douglas LJ. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infect Immun*. 1994;62(3):915-21.
- Herod EL. Cyanoacrylates in dentistry: a review of the literature. *J Can Dent Assoc*. 1950;56:331-4.
- Hoad-Reddick G, Grant AA, Griffiths CS. Investigation into the cleanliness of dentures in an elderly population. *J Prosthet Dent*. 1990;64(1):48-52.
- Howel JM, Bresnavam KA, Stair TO, Dhindsa HS, Edwards BA. Comparison of effects of suture and cyanoacrylate tissue adhesive on bacterial counts in contaminated lacerations. *Antimicrob Agents Chemot*. 1995; 39(2): 559-60.
- Howlett JA, Squier CA. *Candida albicans* ultrastructure colonization and invasion of oral epithelium. *Infect Immun*. 1980;29(1):252-60.
- Hube B. From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. *Curr Opin Microbiol*. 2004;7(4):336-41.
- Hunter KM. Cyanoacrylate tissue adhesive in osseous repair. *Br. Oral Surg*. 1976;14:80-6.
- Iacopino AM, Wathen WF. Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J Am Dent Assoc*. 1992;123(1):46-51.
- Jenquim MR, Liebowitz SM, Sarabia RE, McGinity JW. Physical and chemical factors influencing the release of drugs from acrylic resin films. *J Pharm Sci*. 1990;79(9):811-6.
- Jin Y, Zhang T, Samaranayake YH, Fang HH, Yip HK, Samaranayake LP. The use of new probes and stains for improved assessment of cell viability and extracellular polymeric substances in *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia*. 2005; 159(3):353-60.
- Keng SB, Lim M. Denture plaque distribution and the effectiveness of a perborate-containing denture cleanser. *Quintessence Int*. 1996;27(5):341-5.
- Kimaid A, Nogueira TO, Araújo A, Salgado MAC, Gomes MF. Avaliação histológica do etilcianoacrilato na reparação óssea de ratos. *Rev. Odontol. UNESP*.
- Koziol-Montewka M, Magrys A, Paluch-Oles L, Bogut A, Buczynski K, Jablonka S. MPO and cytokines in the serum of cancer patients in the context of *Candida* colonization and infection. *Immunol Invest*. 2006;35(2):167-79.
- 
-

Kubinova L, Janacek J. Confocal microscopy and stereology: estimating volume, number, surface area and length by virtual test probes applied to three-dimensional images. *Microsc Res Tech*. 2001; 53(6): 425-35.

Kuhar M, Funduk N. Effects of polishing techniques on the surface roughness of acrylic denture base resins. *J Prosthet Dent*. 2005;93(1):76-85.

Kuhn DM, Chandra J, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infect Immun*. 2002;70(2):878-88.

Kulak Y, Arikan A, Kazazoglu E. Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. *J Oral Rehabil* 1997;24(10):788-90.

Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil*. 2002;29(3):300-4.

Kumamoto CA. *Candida* biofilms. *Curr Opin Microbiol*. 2002.5(6):608-11.

Lamfon H, Al-Karaawi Z, McCullough M, Porter SR, Pratten J. Composition of in vitro denture plaque biofilms and susceptibility to antifungals. *FEMS Microbiol Lett*. 2005;242(2):345-51.

Levrier O, Mekkaoui C, Rolland PH, Murphy K, Cabrol P, Moulin G, et al. Efficacy and low vascular toxicity of embolization with radical versus anionic polymerization of n-butyl-2-cyanoacrylate (NBCA). *J. Neuroradiol*. 2003;30:95-102.

Liaqat I, Sabri AN. Effect of biocides on biofilm bacteria from dental unit water lines. *Curr Microbiol*. 2008;56(6):619-24.

Lima EM, Moura JS, Del Bel Cury AA, Garcia RC, Cury JA. Effect of enzymatic and NaOCl treatments on acrylic roughness and on biofilm accumulation. *J Oral Rehabil*. 2006;33(5):356-62.

Lima MECMA, Oliveira AB, Macêdo DR, Mendonça JS. Influência de um selante de superfície na infiltração marginal de restaurações Classe V, em resina composta com margens em dentina. *UFES Ver Odontol*. 2008;10(2):22-6.

Linn JJ, Cameron SM, Runyan DA, Craft DW. Disinfection of denture base acrylic resin. *J Prosthet Dent*. 1999;81:202-6.

---

---

- Ludlow JB, Kutcher MJ, Samuelson A. Intraoral digital imaging documenting recurrent aphthous ulcer healing in 2-octyl cyanoacrylate versus sham-treated lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89(4):425-31.
- Maia CC, Cruz Filho M, Abrahão S, Silva JCCB, Gomes PO, Soufen MA, et al. Efeitos do etil-cianoacrilato na parede venosa de cães. *Acta Cir. Bras.* 2002;17(1):10-13.
- Mahonen K, Virtanen K, Larmas M. The effect of prosthesis disinfection on salivary microbial levels. *J Oral Rehabil.* 1998;25(4):304-10.
- Maia CC, Cruz Filho M, Abrahão S, Silva JCCB, Gomes PO, Soufen MA, et al. Efeitos do etil-cianoacrilato na parede venosa de cães. *Acta Cir. Bras.* 2002;17(1):1-4.
- Makihira S, Nikawa H, Nishimura M, Egusa H, Sadamori S, Rahayu R P, Nishimura H. Impact of components of denture acrylic resin on gingival cell growth and sensitivity to *Candida albicans* adhesion. *Mycoses.* 2002;45, 300–305.
- Mantzikos T, Epstein M. Interior surface sealant for acrylic appliances. *J Clin Orthod.* 1998;32:152-153.
- Maza JL, Elguezabal N, Prado C, Ellacuria J, Soler I, Ponton J. *Candida albicans* adherence to resin-composite restorative dental material: influence of whole human saliva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(5):589-92.
- Meiller TF, Depaola LG, Kelley JI, Baqui AA, Turng BF, Falkler WA. Dental unit waterlines: biofilms, disinfection and recurrence. *J Am Dent Assoc.* 1999;130(1):65-72.
- Menezes MM, Andreatta Filho OD, Soares LF, Valera MC, Araujo MAM. Avaliação da capacidade de impermeabilização do cianoacrilato e do adesivo dentinário autocondicionante em canais obturados e preparados para retentor intra-radicular. *Cienc Odontol Bras.* 2002;5(3):32-7.
- Millard PJ, Roth BL, Thi HP, Yue ST, Hugland RP. Development of the FUN-1 family of fluorescent probes for vacuole labeling and viability testing of yeasts. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63(7):2897-905.
- Mima EG, Pavarina AC, Neppelenbroek KH, Vergani CE, Spolidorio DM, Machado AL. Effect of different exposure times on microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside reline resin. *J Prosthodont.* 2008;17(4):312-7.
- Montanaro L, Arciola CR, Cenni E, Ciapetti G, Savioli F, Filippini F, et al. Cytotoxicity, blood compatibility and antimicrobial activity of two cyanoacrylate glues for surgical use. *Biomaterials.* 2001;22:59-66.
- Moretti Neto RTM, Mello I, Moretti ABS, Robazza CRC, Pereira AAC. *In vivo* qualitative analysis of the biocompatibility of different cyanoacrylate-based adhesives. *Braz Oral res.* 2008;22(1):43-7.
-

Mutignani M, Tringali A, Khodadadian E, Petruzzello L, Spada C, Spera G, et al. External Pancreatic Fistulas resistant to conventional endoscopic therapy: endoscopic closure with n-butyl-2-cyanoacrylate (Gllubran 2). *Endoscopy*. 2004;36:738-42.

Neppelenbroek KH, Pavarina AC, Spolidorio DM, Vergani CE, Mima EG, Machado AL. Effectiveness of microwave sterilization on three hard chairside reline resins. *Int J Prosthodont* 2003;16(6):616-20.

Nikawa H, Kotani H, Sadamori S, Hamada T. Denture Stomatitis and ABO blood types. *J Prosthet Dent*.1991;66(3):391-4.

Nikawa H, Yamamoto T, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T. Growth and or acid production of *Candida albicans* on soft lining materials in vitro. *J. Oral Rehabil*. 1994;21:585.594.

Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T. Effect of components of resilient denture-lining materials on the growth, acid production and colonization of *Candida albicans*. *J. Oral Rehabil*.1995;22:817–824.

Nikawa H, Nishimura H, Hamada T, Kumagai H, Samaranayake LP. Effects of dietary sugars and, saliva and serum on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. *Mycopathologia*. 1997;139(2):87-91.

Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque--past and recent concerns. *J Dent*. 1998;26(4):299-304.

Nikawa H, Jin C, Hamada T, Murata H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part I. Effects on fungal growth. *J. Oral. Rehabil*.2000; 27:41–51.

Nikawa H, Jin C, Hamada T, Makihira S, Kumagai H, Murata H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part II. Effects on fungal colonization. *J Oral Rehabil*. 2000;27(2):124-30.

Nikawa H, Jin C, Makihira S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *J Oral Rehabil*. 2003;30(3):243-50.

Okada A, Nikaido T, Ikeda M, Okada K, Yamauchi J, Foxton RM, Sawada H, Tagami J, Matin K. Inhibition of biofilm formation using newly developed coating materials with self-cleaning properties. *Dent Mater J*. 2008;27(4):565-72.

Olsen I. Denture stomatitis. Occurrence and distribution of fungi. *Acta Odontol Scand*.1974,32(5):329-33.

Olsson J, van der Heijde Y, Holmberg K. Plaque formation in vivo and bacterial attachment in vitro on permanently hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Caries Res*. 1992;26(6):428-33.

---

---

- Palmieri B. Attualità sui collanti biologici ad uso clinico: I cianoacrilati. Continental Medical Group Trieste. 1994.
- Paranhos HF, Panzeri H, Lara EH, Candido RC, Ito IY. Capacity of denture plaque/biofilm removal and antimicrobial action of a new denture paste. *Braz Dent J.* 2000;11(2):97-104.
- Paranhos HF, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods of denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil.* 2007;34:606-612.
- Patel JD, Ebert M, Stokes K, Ward R, Anderson JM. Inhibition of bacterial and leukocyte adhesion under shear stress conditions by material surface chemistry. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2003;14(3):279-95.
- Paz LEC. Image analysis software based on color segmentation for characterization of viability and physiological activity of biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 2009; 75(6):1734-1739.
- Palmieri B. Attualità sui collanti biologici ad uso clinico: I cianoacrilati. Continental Medical Group Trieste. 1994.
- Paz, LEC. Image Analysis Software Based on Color Segmentation for Characterization of Viability and Physiological Activity of Biofilms. 2009;75(6):1734-1739.
- Pereira-Cenci T, Cury AA, Cenci MS, Rodrigues-Garcia RC. In vitro *Candida* colonization on acrylic resins and denture liners: influence of surface free energy, roughness, saliva, and adhering bacteria. *Int J Prosthodont.* 2007 ;20(3):308-10.
- Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Cate JM. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16(2):86-94.
- Perez CR, Hirata R Jr, Silva AHMFT, Sampaio EM, Miranda MS. Effect of a glaze/composite sealant on the 3-D surface roughness of esthetic restorative materials. *Oper Dent.* 2009; 34:674-680
- Phillips FA. *Materiais dentários de Skinner.* 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara; 1986.
- Pires FR, Santos EB, Bonan PR, De Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil.* 2002;29(11):1115-9.
- Quinn DM. The effectiveness, in vitro, of miconazole and ketoconazole combined with tissue conditioners in inhibiting the growth of *Candida albicans*. *J Oral Rehabil.* 1985;12(2):177-82.
- Qureshi A, Drew PJ, Duthie GS, Roberts AC, Monson JRT. N-butyl cyanoacrylate adhesive for skin closure of abdominal wounds: preliminary results. *Ann R Coll Surg Engl.* 1997;79:414-5.
-

- 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, Bollen CM. 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.
- Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent.* 1998;26(7):577-83.
- Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med.*1999;10(1):99-116.
- Rahal JS, Mesquita MF, Henriques GE, Nobilo MA. Surface roughness of acrylic resins submitted to mechanical and chemical polishing. *J Oral Rehabil.* 2004;31(11):1075-9.
- Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL, Redding SW. Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*2004;98(1):53-9.
- Ryou M, Pai RD, Sauer JS, Rattner DW, Thompson CC. Evaluating an optimal gastric closure method for transgastric surgery. *Surg Endosc.* 2007; 21(4):677-80.
- Roahen JO, Lento CA. Using cyanoacrylate to facilitate rubber dam isolation of teeth. *J Endod.*1992;18:517-9.
- Roeder LB, Tate WH, Powers JM. Effect of finishing and polishing procedures on the surface roughness of packable composites. *Oper Dent.*2000;25:534-543.
- Rogers TJ, Balish E. Immunity to *Candida albicans*. *Microbiol Rev.* 1980;44(4):660-82.
- Samaranayake LP, McCourtie J, MacFarlane TW. Factors affecting the in-vitro adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Arch Oral Biol.* 1980;25(8-9):611-5.
- Santos RL. Estudo clínico comparativo da efetividade do cianoacrilato e prime Bond 2.1 na redução ou eliminação da hipersensibilidade dentinária após terapia periodontal [tese]. Camaragibe (PE):Faculdade de Odontologia de Pernambuco;1999.
- Sarac D, Sarac YS, Kulunk S, Ural C, Kulunk T. The effect of polishing techniques on the surface roughness and color change of composite resins. *J Prosthet Dent.* 2006.96:33-40.
- Saska S, Gaspar AMM, Hochuli-Vieira E. Adesivos a base de cianoacrilato para síntese de tecido mole. *An Bras Dermatol.* 2009;84(6):585-92.
- 
-

Saskai S, Roslindo EB, Bolini PDA, Minarelli-Gaspar AM. Uso do adesivo à base de etil-cianoacrilato na reparação óssea. RBO. 2004;13-15.

Sato M, Tsuchiya H, Akagiri M, Takagi N, Inuma M. Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anti-candidal chalcones. Aust Dent J. 1997;42(5):343-6.

Sayinsu K, Isik F, Sezen S, Aydemir B. Effect of blood and saliva contamination on bond strength of brackets bonded with a protective liquid polish and a light cured adhesive. American Journal of orthodontics and dentofacial orthopedics:official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics.2007;131:391-394.

Sergio M, Costa JV, Natali MRM, Queiroz AF. Efeito in vivo do etil-cianoacrilato como isolamento absoluto em gengiva inserida. Revista de Odontologia da UNESP. 2007;36(3):287-92.

Sesma N, Laganá DC, Morimoto S, Gil C. Effect of denture surface glazing on denture plaque formation. Brazilian Dental Journal, 2005;16:129-34.

Shapiro AJ, Dinsmore RC, North JH. Tensile strength of wound closure with cyanoacrylate glue. Am Surg. 2001;67:1113-5.

Shay K. Denture hygiene: a review and update. J Contemp Dent Pract.2000;1:28-41. Ship JA, Pillemer SR, Baum BJ. Xerostomia and the geriatric patient. J Am Geriatr Soc. 2002;50(3):535-43.

Silva MM, Vergani CE, Giampaolo ET, Neppelenbroek KH, Spolidorio DM, Machado AL. Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. Int J Prosthodont. 2006;19(3):288-93.

Silvestri A, Brandi C, Grimaldi L, Nisi G, Brafa A, Calabro M, et al. Octyl-2-cyanoacrylate adhesive for skin closure and prevention of infection in plastic surgery. Aesth. Plast. Surg. 2006;30:695-9.

Smith K, Hunter IS. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. J Med Microbiol. 2008;57(Pt 8):966-73.

Takeuchi CY, Orbegoso VHF, Palma RGD, Panzeri H, Lara EH, Dinelli W. Assessing the surface roughness of a posterior resin composite: effect of surface sealing. Oper Dent.2003;28:281-286

Testini M, Lissidini G, Poli E, Gurrado A, Lardo D, Piccinni G. A single-surgeon randomized Trial comparing sutures, n-butyl-2-cyanoacrylate and human fibrin glue for mesh fixation during primary inguinal hernia repair. Can J Surg. 2010;53(3):155-60.

Theilade J, Budtz-Jorgensen E. Electron microscopic study of denture plaque. J Biol Buccale. 1980;8(4):287-97.

---

Thomas CJ, Nutt GM. The in vitro fungicidal properties of Visco-gel, alone and combined with nystatin and amphotericin B. *J Oral Rehabil.* 1978;5(2):167-72.

Tommasi MH, Birman EG. *Diagnóstico em Patologia Bucal.* 3 ed. São Paulo:Pancast; 2002.

Toriumi DM, Raslan WF, Friedman M, Tardy ME. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesives. A comparative study. 1990; 116(5):546-50

Toriumi DM, O'Grady K, Desai D, Bagal A. Use of octyl-2-cyanoacrylate for skin closure in facial plastic surgery. *Plast. Reconstr.Surg.*1998;102(6):2209-19.

Towfigh S, Cheadle WG, Lowry SF, Malangoni MA, Wilson SE. Significant reduction in incidence of wound contamination by skin flora through use of microbial sealant. *Arch Surg.* 2008;143(9):885-91.

Ueda EL; Hofling-Lima AL; Sousa LB; Tongu MS; Yu MCZ; Lima Aas. Avaliação de um cianoacrilato quanto à esterilidade e atividade biocida. *Arq. Bras.Oftalmol.*2004;67(3):397-400.

Ueda EL; Ottaiano JAA. Comparação dos gastos com material para reparação de perfurações de córnea com cola de cianoacrilato e sutura de córnea. *Arq.Bras.Oftalmol.*2004;67(1):97-101.

Ureña JL. Características generales de los hongos patógenos humanos. In: Hill MMG, editor. *Microbiologia Oral.* 1995.p.362-75.

Van Reenen JF. Microbiologic studies on denture stomatitis. *J Prosthet Dent.* 1973;30(4):493-505.

Vasilas A, Molina L, Hoffman M, Haidaris CG. The influence of morphological variation on *Candida albicans* adhesion to denture acrylic in vitro. *Arch Oral Biol.* 1992 ;37(8):613-22.

Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent.* 1997;77(5):535-9.

Vitkov L, Krautgartner WD, Hanning M, Weitgasser R, Stoiber W. *Candida* attachment to oral epithelium. *Oral Microbiol Immunol.*2002;17(1):60-4.

Webb BC, Thomas CJ, Harty DW, Willcox MD. Effectiveness of two methods of denture sterilization. *J Oral Rehabil.* 1998;25(6):416-23.

Weber SC, Chapman MW. Adhesive in orthopaedic surgery: a review of the literature and in vitro bonding strengths of bone-bonding agents. *Clin. Orthop.* 1984; 191:249-61.

Weiger R, de lucena J, Decker HE. Lost C. Vitality status of microorganisms in infected human root dentine. *Int Endod J.* 2002; 35(2):166-71.

---

---



Williams DW, Potts AJ, Wilson MJ, Mathews JB, Lewis MA. Characterisation of the inflammatory cell infiltrate in chronic hyperplastic candidosis of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* . 1997; 26(2):83-9.

Wilson J. The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *Br Dent J*.1998;185(8):380-4.

Wilson SE. Microbial sealing: a new approach to reducing contamination. *Journal of Hospital Infection*. 2008;70(52):11-14.

Wood SR, Kirkham J, Marsh PD, Shore RC, Nattress B, Robinson C. Architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. *J Dent Res*. 2000; 79(1): 21-7.

Woodward SC, Herrmann JB, Cameron JL, Brandes G, Pulaski EJ, Leonard F. Histotoxicity of Cyanoacrylate Tissue Adhesive in the Rat. *Annals of Surgery*.1965; 162(1):113-122.

Zaura-Arite E, van marle J, tem Cate JM. Confocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. *J Dent Res*.2001; 80(5):1436-40.

Zimmerli B, Koch T, Flury S, Lussi A. The influence of toothbrushing and coffee staining on different composite surface coatings. *Clin Oral Investig*.2011.

Zissis A, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont*. 2000;13(2):136-40.

Zissis A, Yannikakis S, Harrison A. Comparison of denture stomatitis prevalence in 2 population groups. *Int J Prosthodont*.2006;19(6):621-5.

---

---