UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE

MILLENA MANGUEIRA ROCHA

**Ação antimicrobiana e efeitos adversos de soluções higienizadoras de
próteses totais – estudo *in vitro*.**

Ribeirão Preto

2018

MILLENA MANGUEIRA ROCHA

**Ação antimicrobiana e efeitos adversos de soluções higienizadoras de
próteses totais – estudo *in vitro*.**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Mestre em Ciências. Programa:
Odontologia (Reabilitação Oral).

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Helena de Freitas Oliveira
Paranhos

Ribeirão Preto

2018

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do *Campus* USP – Ribeirão Preto

Rocha, Millena Mangueira
Ação antimicrobiana e efeitos adversos de soluções higienizadoras de prótese totais – estudo *in vitro*. Ribeirão Preto, 2018.

130 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Programa: Odontologia (Reabilitação Oral).

Versão Corrigida da Dissertação. A versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa de Pós-graduação.

Orientador: Paranhos, Helena de Freitas Oliveira.

1. Prótese Total. 2. Resinas Acrílicas. 3. Biofilmes. 4. Propriedades. 5. Produtos com Ação Antimicrobiana.

Nome: ROCHA, Millena Manguiera

Título: Ação antimicrobiana e efeitos adversos de soluções higienizadoras de próteses totais – estudo *in vitro*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Programa: Odontologia (Reabilitação Oral)

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Prof. (a) Dr. (a): _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ **Assinatura:** _____

Dedicatória

Ao Senhor Eterno de Ysra'El, por ter me concedido vida, através de Seu amado filho, Yeshua HaMashiach; por ter dito “vai” e ter vindo comigo; por ter me consolado e me dado força através de Seu Santo Espírito quando a caminhada se tornou árdua longe da minha família; por todo o teu cuidado, amor e provisão, Pai Eterno, não só neste trabalho, mas em toda a minha vida. Que sejam consagradas a Ti, as obras das minhas mãos, através de Yeshua!

Aos meus Pais **Francisco e Aparecida**, por serem os melhores pais do mundo; por toda provisão, suporte e incentivo durante a execução dos projetos da minha vida. Por todo amor, paciência, conselhos, e principalmente, por terem sonhado e trilhado a caminhada comigo. Aos meus irmãos **Júnior, Monike e Maria Cecília**, por todo amor, proteção e incentivo. Minha família, meu tudo, é por vocês que estou aqui! Eu vos amo com todo coração!

Aos meus avós **Ademar Mangueira e Dorinha, Benício Pereira** (In Memoriam) e **Nice** por todo amor, dedicação, confiança, suporte e incentivo a mim prestados. Deixo aqui registrado todo o meu amor por vocês!

“Pois sabendo que o SENHOR estava comigo, criei coragem”.

Esdras 7:28

Agradecimento Especial

À Prof.^a Dr.^a **Helena de Freitas Oliveira Paranhos**, minha orientadora, por ter me acolhido. Por todas as oportunidades, pela confiança e paciência; por compartilhar os seus conhecimentos, apresentando-me a carreira docente; mas principalmente, por ter segurado em minha mão e me auxiliado a trilhar a jornada.

Por tudo o que a senhora fez e faz por mim, Professora Helena, fica aqui toda a minha gratidão, carinho e admiração!

Agradecimientos

Ao **Eterno de Ysra'El** por toda sua provisão e cuidado! Ao meu Senhor **Yeshua** e à **Ruach HaKodesh** (Espírito do Santo) por me guiarem, por intercederem por mim junto a nosso Pai e por todo consolo e companhia!

À **minha família**, por todo apoio, cuidado e amor!

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto** da Universidade de São Paulo, representada pela **Diretora Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva**, pela oportunidade de aprendizado e crescimento durante o curso de Mestrado.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação na área de Reabilitação Oral, por sua dedicação e incentivo, buscando sempre dar o melhor do programa aos pós-graduandos, ajudando no crescimento individual dos alunos.

À **Profª Drª Valéria Oliveira Pagnano de Souza**, chefe do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por todo suporte e disponibilidade.

Aos **Professores do Departamento de Materiais Dentários e Prótese** da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pelos ensinamentos, disponibilidade e contribuição.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao **CNPq** (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa fornecida durante o curso.

Às Funcionárias da Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Fernanda Talita de Freitas, Denise Martins Fontes Gonçalves e Regiane de C. Tirado Damasceno**, pela disponibilidade, atenção, paciência e carinho.

Aos Funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Mary Possani Carmessano e Carlos Feitosa dos Santos**, pela disponibilidade, atenção e presteza nas informações e orientações.

Ao **Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice** (Instituto de Química de São Carlos – USP) pelo fornecimento da solução à base de *Ricinus communis* para realização da pesquisa.

Às queridas **Prof^{as} Dr^{as} Cláudia Helena Lovato da Silva, Prof^{as} Dr^{as} Fernanda Panzeri Pires de Sousa, Prof^{as} Dr^{as} Maria da Glória Chiarello de Mattos, Prof^{as} Dr^{as} Andreia Candido dos Reis e à Prof^{as} Dr^{as} Regina Guenka Palma Dibb**, pela disponibilidade e ajuda na pesquisa.

À **Adriana Claudia L. Faria Queiroz, Rafaela Tonani Torrieri, Edson Volta e Juliana Jendiroba Faraoni** pelo auxílio durante os ensaios, ensinamentos e acolhida calorosa em seus laboratórios.

À Técnica do laboratório de Reabilitação Oral, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Viviane de Cássia Oliveira**, pelos ensinamentos, paciência, carinho e amizade. Por toda ajuda, dedicação e auxílio neste trabalho, deixo aqui meu agradecimento.

À Técnica do Laboratório de Pesquisa de Metrologia **Ana Paula Macedo**, pela realização da análise estatística, pela paciência em me transmitir seus conhecimentos e por toda ajuda e apoio a mim dispensados.

Às queridas **Carolina Noronha Ferraz de Arruda e Flávia Cristina Targa Coimbra**, por todo auxílio no projeto, na execução do mesmo e amizade durante esses anos de mestrado.

Aos colegas de Mestrado **Lívia Fiorin, Cecília Vasconcelos, Geyson Galo, Michelli Menezes, Marlília Lamenha, Alice Ramos e Bruna Neves** por todos os momentos vividos, pelas lágrimas, sorrisos e vitórias compartilhadas. Por terem me ajudado em todos os momentos que senti medo e insegurança; por estarem ao meu lado, por terem feito parte da realização de um sonho, mais que isso, por terem me auxiliado a conquistá-lo. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos **Lúvia Fiorin, Bruna Tonin, Maurício Badaró, Raniel Peixoto, Frank Lucarini, Thalisson Saimo e Raony Molim**, por terem se tornado a extensão da minha família em Ribeirão Preto, auxiliando-me na caminhada. Por toda amizade, carinho, atenção e cuidados a mim prestados.

A todos os **amigos da Pós-Graduação**, pelos momentos, experiências e conhecimentos compartilhados.

Ao **Rosh Carlos e Sel Mendes**, a todos os irmãos da Beit Sar Shalom e do Ministério O Som do Céu por terem me acolhido em família e me coberto de oração, auxiliando-me, protegendo-me e fortalecendo-me durante todo esse tempo. Pelo amor, carinho, cuidado e atenção a mim prestados, deixo aqui registrado o meu amor por vocês!

A todos **os meus professores** pela contribuição em toda a minha formação profissional e pessoal, pelos incentivos e ajuda. Ter chegado até aqui não seria possível sem vocês!

Ao querido **Prof. Dr. Rodrigo Alves Ribeiro**, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, por ter me apoiado e me auxiliado com material preparatório quando decidi prestar a prova de mestrado. Por toda força, disponibilidade, amizade e incentivo não só durante a graduação, mas em minha carreira, deixo aqui meu agradecimento e admiração.

Aos **Professores da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande** pela excelência na formação acadêmica de Cirurgião-Dentista;

Aos queridos amigos **Ricardo Brasileiro, Natielle Manguiera, Jéssica Marques, Maronilson Soares e João Paulo Barbosa** por todo incentivo, carinho e amizade durante minha vida. Saber que posso contar com vocês me fortalece!

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

Resumo

Rocha MM. Ação antimicrobiana e efeitos adversos de soluções higienizadoras de próteses totais – estudo *in vitro* [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2018.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de estudo *in vitro*, o efeito de soluções químicas de higienização quanto à ação antimicrobiana e os efeitos sobre as propriedades da resina acrílica termicamente ativada. Para a ação antimicrobiana, corpos de prova circulares (15mm x 3mm) foram esterilizados por radiação em forno micro-ondas e contaminados com suspensão de 10^6 UFC/mL dos microrganismos: *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*, e incubados a 37°C por 48h. Em seguida, os espécimes foram imersos nas soluções: Grupo I – PBS (controle); Grupo II – Solução à base de *Ricinus communis* a 6,25%; Grupo III – Hipoclorito de sódio 0,20%; durante 20 minutos, e, Grupo IV – Peróxido Alcalino Efferdent® Power Clean Crystals, durante 3 minutos, e lavadas (PBS) e imersas em meio Letheen. A suspensão resultante foi diluída (10^0 a 10^{-3}) em solução salina estéril e alíquotas foram semeadas em meio específico. Após incubação (37°C por 24h), as colônias foram contadas para o cálculo de UFC/mL. Para análise das propriedades da resina acrílica, corpos de prova circulares (15mm x 3mm) e retangulares (65mm x 10mm x 3,3mm) foram imersos nas soluções, simulando 05 anos de imersões curtas. Antes e após as imersões, foram submetidos a análise de cor (Colorímetro Color Guide 45/0) e NBS ($NBS = \Delta E^* \times 0,92$); de dureza Knoop (microdurômetro Microhardness Tester Shimadzu); de rugosidade de superfície (rugosímetro Surftest SJ - 201P, Mitutoyo Corporation; microscópio confocal a laser 3D Olympus LEXT OLS4000®, Japão); de morfologia de superfície (microscópio eletrônico de varredura EVO 10 - MEV, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemanha); e de resistência à flexão (Máquina Universal de Ensaio DL 2000, EMIC). Os dados com distribuição normal foram analisados por ANOVA, seguido pelo teste de Tukey; os dados com distribuição não-normal, foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($\alpha=0,05$). Os resultados mostraram que o grupo do hipoclorito reduziu a zero a contagem de UFC dos três microrganismos, os grupos do *Ricinus communis* e do peróxido Efferdent tiveram ação moderada frente *C. glabrata* ($p<0,001$) e *S. mutans* ($p=0,001$), respectivamente. Quanto as propriedades da resina, a solução de *Ricinus communis* causou leve alteração de cor ($p=0,030$), segundo NBS; maiores alterações de dureza ($p<0,001$), rugosidade superficial em rugosímetro ($p=0,006$) e microscópio 3D ($p=0,040$) e da resistência à flexão ($p<0,001$). A maior alteração da morfologia de superfície (MEV) foi observada no grupo do peróxido Efferdent. Pode-se concluir que a

solução de hipoclorito de sódio a 0,20% foi a mais efetiva, uma vez que apresentou ação antimicrobiana frente aos três micro-organismos avaliados; as soluções de *Ricinus communis* 6,25% e Peróxido Efferdent tiveram ação moderada frente a *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*, respectivamente. Quanto à análise das propriedades da resina acrílica, nenhuma das soluções causou alteração clinicamente significativa nas propriedades avaliadas.

Palavras-chave: Prótese Total. Resinas Acrílicas. Biofilmes. Propriedades. Produtos com Ação Antimicrobiana.

Abstract

Rocha MM. Antimicrobial action and adverse effects of complete dentures hygienic solutions – *in vitro* study. [Dissertation]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2018.

The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the antimicrobial action and adverse effects of denture cleansers on a heat-polymerized acrylic resin. The antimicrobial action was evaluated using samples fabricated on a metallic circular matrix (15mm x 3mm), which were sterilized by radiation in microwave and inoculated with a 10^6 CFU/ml of microorganisms' suspension: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, and *Streptococcus mutans*. After inoculated, the specimens were incubated at 37°C for 48h and then immersed on the following solutions: Group I - Saline (control); Group II - *Ricinus communis* 6,25% solution based; Group III - Sodium hypochlorite 0,20%; Group IV - Alkaline Peroxide Efferdent® Power Clean Crystals. The samples were then washed (PBS) and immersed in the Letheen medium. The resulting solution was diluted ($10^0 - 10^{-3}$) in sterile saline and aliquots were cultured in the specific medium. After incubation period (37°C for 24h), the number of colonies was measured and the number of CFU / mL was calculated. For the adverse effects, circular (15mm x 3mm) and rectangular (65mm x 10mm x 3,3mm) test specimens of heat-polymerized acrylic resin were immersed in the solutions, simulating 05 years of short immersions per sanitation period. Before and after the immersions, the samples were evaluated for color alteration (Color Guide 45/0 colorimetry) and correlation of the data according to NBS units ($NBS = \Delta E^* \times 0,92$); Knoop hardness (Microhardness Tester Shimadzu microdurometry); analysis of surface roughness (Surftest SJ - 201P, Mitutoyo Corporation; 3D Olympus LEXT OLS4000®, Japão); surface morphology (EVO 10 - MEV Scanning electron microscope, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemanha); and flexural strength was done. The data that presented normal distribution were analyzed by ANOVA and post-hoc Tukey test; Data that presented non-normal distribution were analyzed by the Kruskal-Wallis and Dunn test ($\alpha = 0.05$). The results showed that hypochlorite reduced the CFU of the three microorganisms to zero, the solution of *Ricinus communis* and Efferdent peroxide had an average action against *C. glabrata* ($p < 0,001$) and *S. mutans* ($p = 0,001$), respectively. The solution of *Ricinus communis* showed color changes ($p = 0,030$), classified as "light" according to NBS ($p < 0,001$), and higher values of surface roughness, when analyzed by the rugosimeter ($p = 0,006$) and 3D microscope ($p = 0,040$), and flexural strength ($p < 0,001$). The major change in surface morphology (SEM) was found in the Efferdent peroxide group. It can be concluded that the solution of 0.20% sodium hypochlorite was the most effective

because it presented antimicrobial action against the three microorganisms evaluated; the solutions of *Ricinus communis* 6,25% and Peroxide Efferdent had moderate action against *Candida glabrata* and *Streptococcus mutans*, respectively. Regarding the analysis of the properties of the acrylic resin, none of the solutions caused a clinically significant alteration in the evaluated properties.

Keywords: Complete Denture. Acrylic Resins. Biofilms. Properties. Products with Antimicrobial Action.

Lista de figuras

Figura 1 - A – Matriz metálica para obtenção dos corpos de prova; B – Mufla; C e D – Resina acrílica termopolimerizável Clássico; E – Prensagem da resina acrílica; E – Polimerizadora (Termocycler).	55
Figura 2 - A – Broca empregada para eliminação dos excessos de resina; B – Politriz utilizada para acabamento dos corpos de prova.	56
Figura 3 – Corpos de prova em béquer para submissão à esterilização por radiação.	57
Figura 4 - A – Posicionamento das amostras; B – Centrífuga.	59
Figura 5 – A e B – Espectrofotômetro e Câmara de Neubauer utilizados, respectivamente.	59
Figura 6 - A – Distribuição dos corpos de prova e inóculo microbiano; B e C – Incubação dos corpos de prova em estufa bacteriológica; D – Lavagem com PBS; E – Inserção do meio de cultura; F – Troca do meio após 24 horas.	60
Figura 7 - A – Transferência dos corpos de prova para o tubo contendo a solução higienizadora; B – Tubos contendo o higienizador; C – Sequência de enxague dos corpos de prova.	61
Figura 8 – A – Cesta com corpos de prova para higienização na solução de peróxido Efferdent; B e C – Sequência de enxague dos corpos de prova.	61
Figura 9 – A – Transferência dos corpos de prova para o meio Lethen; B – Cuba de ultrassom.	62
Figura 10 - A – Tubos de ensaio posicionados em agitador mecânico; B e C – Semeadura da alíquota sem diluição; D – Alíquotas das soluções diluídas; E – Homogeneização com alça de drigalski em meio específico; F – Placas incubadas em estufa.	63
Figura 11 - A – Placas em jarra de microaerofilia; B – Estufa microbiológica.	63
Figura 12 - A e B – Matriz metálica circular empregada; C e D – Matriz metálica retangular empregada; E – Prensagem da resina acrílica; F – Termopolimerizadora Termocycler.	65
Figura 13 - A e B – Broca empregada para eliminação dos excessos de resina; C e D – Posicionamento dos corpos de prova em politriz para acabamento; E – Corpo de prova posicionado para polimento; F – Mensuração das medidas dos corpos de prova.	66
Figura 14 – A, B e C – Corpos de prova com marcações laterais.	66
Figura 15 - A – Espectrocolorímetro; B – Posicionamento dos corpos de prova no aparelho.	68
Figura 16 - A e B – Posicionamento dos corpos de prova em Microdurômetro.	69
Figura 17 – Posicionamento dos corpos de prova em rugosímetro para leitura da rugosidade de superfície.	70
Figura 18 - A e B – Posicionamento dos corpos de prova em Microscópio Confocal a Laser 3D, para análise da rugosidade de superfície.	70

Figura 19 - A – Nuvem de ouro durante metalização dos corpos de prova; B – Corpos de prova metalizados para análise da morfologia de superfície.	71
Figura 20 – Corpo de prova posicionado para ensaio de resistência à flexão.	72
Figura 21 - Bloxplot do resultado da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) de <i>Candida albicans</i>	76
Figura 22 - Boxplot do resultado da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>Candida glabrata</i>	78
Figura 23 - Boxplot do resultado da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>S. mutans</i>	80
Figura 24 - Boxplot da alteração de Cor (ΔE)	82
Figura 25 - Boxplot da variação da Dureza (ΔHK).	84
Figura 26 - Boxplot da variação da Rugosidade (ΔRa).	86
Figura 27 - Imagens tridimensionais obtidas com Microscopia Confocal (aumento 108x).	87
Figura 28 - Boxplot da variação da rugosidade em Sa (μm^2).	89
Figura 29 - Fotomicrografia (aumento de 1000x) dos corpos de prova representativos dos grupos avaliados.	90
Figura 30 - Boxplot da resistência à flexão (MPa).	92

Lista de tabelas

Tabela 1 - Valores da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>Candida albicans</i>	75
Tabela 2 - Análise de variância para <i>Candida albicans</i>	75
Tabela 3 - Média (desvio padrão) da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>Candida albicans</i> e comparações estatísticas (ANOVA).	76
Tabela 4 - Valores de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>Candida glabrata</i>	77
Tabela 5 - Análise de variância para <i>Candida glabrata</i>	77
Tabela 6 - Média (desvio padrão) da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>Candida glabrata</i> e comparações estatísticas (ANOVA e Teste de Tukey).	78
Tabela 7 - Valores da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>Streptococcus mutans</i>	79
Tabela 8 - Medianas (intervalos de confiança) da contagem de UFC+1 (Log ₁₀) para <i>S. mutans</i> e comparações estatísticas (Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).	79
Tabela 9 - Alteração de cor (ΔE e NBS) dos corpos de prova e respectivas classificações segundo NBS.	81
Tabela 10 - Medianas (intervalos de confiança) do ΔE e comparações estatísticas (Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn)	82
Tabela 11 - Médias da dureza Knoop (KNH - kg/mm ²) antes (Di) e após (Df) as imersões. .	83
Tabela 12 - Medianas (intervalos de confiança) do ΔHK e comparações estatísticas (Testes de Kruskal-Wallis e posterior teste de Dunn).	84
Tabela 13 - Valores da rugosidade (μm) dos corpos de prova antes (Rai) e após (Raf) as imersões, e respectivas variações (ΔRa).	85
Tabela 14 - Medianas (intervalos de confiança) do ΔRa (μm) e comparações estatísticas. (Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).	86
Tabela 15 - Valores de Sa (μm^2) após a imersão nas soluções higienizadoras e valores do SI (Controle Sem Imersão).	88
Tabela 16 - Análise de variância para rugosidade de superfície em Sa (μm^2).	88
Tabela 17 - Médias (desvios padrões) do Sa (μm^2) e comparações estatísticas entre os grupos.	89
Tabela 18 - Valores da resistência à flexão (MPa) dos corpos de prova antes (controle seco) e após as imersões.	91
Tabela 19 - Medianas (intervalos de confiança) da resistência (MPa) e análise estatística (testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).	92

Sumário

1. INTRODUÇÃO	41
2. OBJETIVO	49
2.1 OBJETIVO GERAL	51
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
3. MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1 AÇÃO ANTIMICROBIANA	55
3.1.1 Confecção dos corpos de prova	55
3.1.2 Soluções higienizadoras e estabelecimento dos grupos	56
3.1.3. Meios de Cultura	57
3.1.4 Formação do biofilme e Contaminação dos corpos de prova	58
3.1.5 Aplicação dos métodos de higiene	60
3.1.6 Avaliação da Ação Antimicrobiana	62
3.2 AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DAS PROPRIEDADES DA RESINA ACRÍLICA	64
3.2.1 Confecção dos corpos de prova	64
3.2.2 Soluções higienizadoras e estabelecimento dos grupos	67
3.2.3 Procedimentos de Imersão	67
3.2.4 Análise das propriedades da resina acrílica	68
3.3 ANÁLISE DOS DADOS	72
4. RESULTADOS	73
4.1 AÇÃO ANTIMICROBIANA	75
4.1.1 <i>Candida albicans</i>	75
4.1.2 <i>Candida glabrata</i>	77
4.1.3 <i>Streptococcus mutans</i>	79
4.2 ANÁLISE DA ALTERAÇÃO DAS PROPRIEDADES	80

4.2.1 Cor.....	80
4.2.2 Dureza	83
4.2.3 Rugosidade de Superfície.....	85
4.2.5 Análise da Morfologia de Superfície	90
4.2.4 Resistência à Flexão.....	91
5. DISCUSSÃO	93
6. CONCLUSÃO	101
REFERÊNCIAS	105
APÊNDICES.....	113

1. Introdução

O hábito de higienização de próteses totais é essencial para a remoção do biofilme, e dessa forma, minimiza o risco de ocorrer infecções, e contribui para uma boa saúde oral e sistêmica, além de manter o aparelho protético sem odor e esteticamente agradável (Coulthwaite; Verran, 2007; Felton et al., 2011; Neppelenbroek, 2015). Dentre as formas de manutenção do aparelho protético, o método mecânico de escovação é amplamente recomendado; porém, a literatura mostra a importância da utilização de uma solução de imersão com ação antimicrobiana para auxiliar o controle do biofilme protético, levando em consideração às limitações físicas dos usuários de prótese total, que são em sua maioria idosos (Peracini et al., 2010a; Gendreau; Loewy, 2011; Ramage et al., 2012).

As soluções higienizadoras devem ter ação antimicrobiana e ser efetivas frente a remoção do biofilme, sem causar efeitos deletérios na resina acrílica (Council on Dental Materials, Instruments and Equipments, 1983). Dentre as soluções químicas higienizadoras disponíveis no mercado, o hipoclorito de sódio e os peróxidos alcalinos são amplamente utilizadas pelos pacientes, pela facilidade de uso (Peracini et al., 2010a; Felton et al., 2011), podendo ser empregadas de modo isolado, porém, apresentam maior efetividade quando associado a métodos mecânicos de higiene, como o ultrassom e/ou escovação (Kulak et al., 1997; Paranhos et al., 2007a;b; Nishi et al., 2014; Neppelenbroek, 2015; Axe et al., 2016).

A solução de hipoclorito de sódio é muito empregada devido ao seu baixo custo, facilitando seu acesso, e a sua ampla ação antimicrobiana. Porém, sua efetividade e ausência de efeitos deletérios aos materiais constituintes do aparelho protético dependem de fatores como tempo de imersão, concentração e período de uso da solução (Pavarina et al., 2003; Webb; Thomas; Whittle, 2005; Silva et al., 2008; Orsi et al., 2011; Arruda, 2014; Salles et al., 2015a,b.) Estudos em diversas diluições do hipoclorito de sódio foram realizados, onde testes clínicos mostraram efetividade dessa solução na remoção do biofilme em concentrações de 2,25% por 10 minutos (Catão et al., 2007); 1% por 20 minutos (Andrade et al., 2014); 0,5% por 3 minutos (Porta et al., 2015), 20 minutos (Boscato et al., 2009; Badaró et al., 2017) e 8 horas ou “overnight” (Peracini et al., 2016). Webb et al. (2005) verificaram efetividade da solução de hipoclorito a 0,02% na desinfecção e remissão da estomatite em uso “overnight”. Salles et al. (2015) concluíram que as concentrações de 0,50% e 0,25% em imersões curtas de 20 minutos apresentam atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Candida* spp. e gram negativos. Badaró et al. (2017) mostraram que essas concentrações (0,50% e 0,25%) também são efetivas quanto a remoção do biofilme. Estudos *in vitro* mostraram efetividade do

hipoclorito a 1% por 10 minutos e 2% por 5 minutos (Silva et al., 2011) e 0,5% por 10 minutos frente a ação antifúngica e remoção de biofilme de *Candida* spp. (Montagner et al., 2009; Fernandes et al., 2011; Ferreira et al., 2009; Vieira et al., 2010). Em relação aos efeitos deletérios causados às propriedades dos materiais, há relatos da alteração de cor no metal (Paranhos et al., 2014), bem como alteração de cor, resistência à flexão e rugosidade de superfície em resinas acrílicas, em concentrações de 1% e 0,5%, por uso de 3 a 20 minutos, e em uso “overnight” de 8 horas (McNeme 1991; Lima et al., 2006; Paranhos et al., 2009; Pisani et al., 2010; Pisani et al., 2012; Paranhos et al., 2013; Porta et al., 2015; Badaró et al., 2016; Arruda et al., 2017).

Estudos mostraram efetividade clínica de soluções de hipoclorito de sódio a 0,20% e 0,10%, quando utilizadas em imersões curtas de 20 minutos, frente ao controle do biofilme, ação antimicrobiana e remissão da estomatite protética, sem danos nas propriedades de cor, rugosidade de superfície e resistência à flexão dos materiais constituintes das próteses, simulando 5 anos de uso (Arruda, 2014; Arruda et al., 2017). A solução de hipoclorito de sódio a 0,20% apresentou resultados melhores quando comparado a diluição de 0,10%; porém, a ação antimicrobiana foi realizada apenas frente a *Candida* spp. Dessa forma, é importante avaliar a efetividade da concentração de 0,20% frente a outros micro-organismos comumente presentes na cavidade oral de pacientes usuários de próteses totais, bem como seu efeito sobre outras propriedades da resina acrílica, simulando o período estimado de uso das próteses.

Devido ao aroma agradável e facilidade de uso, as soluções de peróxido alcalino também são amplamente indicadas (Felton et al., 2011). Tais soluções podem ser usadas de maneira isolada, em imersões curtas de 3 a 60 minutos (Pavarina et al., 2003; Catão et al., 2007; Ferreira et al., 2009; Montagner et al., 2009; Paranhos et al., 2009; Fernandes et al., 2011; Vieira et al., 2010; Cruz et al., 2011; Iseri et al., 2011; Andrade et al., 2014; Lucena-Ferreira et al., 2014; Nishi et al., 2014; Coimbra et al 2016) ou “overnight” de 8 horas (Kulak et al., 1997; Gornitsky et al., 2002; Paranhos et al., 2007; Dhamande et al., 2012; Khan et al., 2016; Peracini et al., 2016), conforme orientação do fabricante. Estudos comprovam maior eficácia dessa solução quando associada ao método mecânico, comparados aos resultados do uso de forma isolada (Paranhos et al., 2007; Paranhos et al., 2009; Fernandes et al., 2011, Iseri et al., 2011; Nishi et al., 2014). Contudo, a divergência de resultados entre os estudos com peróxidos alcalinos pode estar associada à diversidade de metodologias empregadas (Cruz et al., 2011).

Estudos mostraram efetividade de produtos com enzimas e peróxidos frente *Candida* spp. e à remoção de biofilme formado por *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans* (Nakamoto et al., 1991; Gornitsky, 2002; Cruz et al., 2011), com relatos de ação moderada, sendo necessária complementação com um método mecânico de higienização (Catão et al., 2007; Paranhos et al., 2007; Andrade et al., 2014; Peracini et al., 2016). Quanto a ação antimicrobiana, alguns estudos *in vitro* avaliaram a ação dos peróxidos frente ao *Streptococcus mutans* e aeróbios (Lucena-Ferreira et al., 2014), porém a maioria é direcionado às cepas de *Candida* spp. (Montagner et al., 2009; Li et al., 2010; Dhamande et al., 2012; Ferreira et al., 2009; Vieira et al., 2010; Lucena-Ferreira et al., 2014; Khan et al., 2016). Em relação aos efeitos adversos sobre as propriedades da resina acrílica, há relatos na literatura de alteração de cor, rugosidade de superfície e diminuição da resistência à flexão (Lima et al., 2006; Paranhos et al., 2008; Hong et al., 2009; Peracini et al., 2010b; Arici et al., 2013; Amin et al., 2014). Alterações de cor classificadas como perceptíveis na resina acrílica (Paranhos et al., 2013) e no metal (Paranhos et al., 2014) foram comprovadas. Contudo, há relatos da eficiência dos peróxidos na remoção de manchas (Sharma et al., 2015; Vidushi et al., 2016). Coimbra et al. (2016) verificaram a efetividade dos peróxidos Medical Interporous e Efferdent frente a oito microrganismos distintos, mostrando a viabilidade do uso dessas soluções como higienizadores de próteses totais. Porém, a análise dos efeitos desses higienizadores sobre as propriedades da resina acrílica não foi realizada, fazendo-se necessária tal avaliação.

Na odontologia, faz-se necessário o aprimoramento e desenvolvimento de materiais utilizados para manter ou devolver a saúde oral e geral aos pacientes. Desta maneira, em relação aos higienizadores de próteses, a solução à base de *Ricinus communis*, popularmente conhecida como mamona, vem sendo estudada em diversos campos de atuação. O óleo extraído contém uma potente toxina proteica chamada rícino, que atua na inativação de ribossomos, e prejudica a síntese proteica e, conseqüentemente, promove a morte celular (Pisani et al., 2010). Sua ação antimicrobiana deve-se, também, à capacidade de quebra de moléculas de açúcar das paredes celulares de micro-organismos, apresentando, assim, ação detergente (Masseti et al., 2010). A *Ricinus communis* é uma planta de origem tropical e pode ser cultivada em diversos países, o que facilita a obtenção, futuramente, de uma solução natural, de baixo custo, sendo assim, acessível aos pacientes. Entretanto, sua efetividade frente aos micro-organismos e na remoção do biofilme, e ausência de danos ao aparelho protético devem ser confirmadas (Pisani et al., 2010; Salles et al., 2015a,b; Bueno, 2016; Arruda et al., 2017).

A solução de *Ricinus communis* a 3,3% foi avaliada como solução irrigadora de canais radiculares (Endoquil) e na periodontia (Perioquil) (Siqueira, 2005). Na higienização de próteses totais, Salles et al. (2015a,b) verificaram, por meio de estudo *in vitro*, que a solução de *R. communis* a 10% diminuiu o número de UFC de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*. Pinelli et al. (2013) compararam a eficácia de um colutório bucal de *R. communis* a 3,3% com o Miconazol no tratamento da estomatite protética e observaram efetividade na remissão da estomatite, porém a solução não reduziu o número de UFC para as cepas de *Candida* spp. Andrade et al. (2014), por meio de estudo clínico, verificaram a eficácia dessa solução a 2% na remoção de biofilme, porém a ação antimicrobiana não foi avaliada. Malheiros-Segundo et al. (2014) avaliaram a eficácia dessa solução com concentração de 2% na redução do número de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* na superfície de material reembasador de prótese total, mas em relação a remoção do biofilme, a solução apresentou ação moderada. Badaró (2017) avaliaram a capacidade de remoção do biofilme, ação antimicrobiana, remissão de candidíase e satisfação dos pacientes de soluções de hipoclorito a 0,50% e 0,25%, comparadas à solução de *R. communis* a 10%, em imersão diária de 20 minutos, e os resultados mostraram que a mamona teve ação moderada quanto à remoção do biofilme e ação antimicrobiana, e foi efetiva na remissão da candidíase, além de ter sido amplamente aceita pelos pacientes. Arruda et al. (2017), por meio de um estudo clínico, verificaram a efetividade da solução de mamona a 8% na remissão da estomatite.

Em relação aos efeitos deletérios causados pela solução de *R. communis* a 10%, a rugosidade de superfície foi alterada, sem significância clínica (Badaró et al., 2016). Pisani et al. (2010b; 2012) avaliaram a dureza, a rugosidade de superfície, alteração de cor e a resistência a flexão de uma resina acrílica, após imersões curtas de 20 minutos, simulando três anos de uso, e após imersões longas de 8 horas ou “overnight”, simulando um ano e meio de uso em uma solução a 2% de *R. communis* e constataram que a solução causou alteração nas propriedades da resina acrílica, em ambos os tempos avaliados, porém sem significância clínica. Bueno (2016) avaliou os efeitos das soluções de *R. communis* a 2% e 10% sobre as propriedades da resina acrílica, após imersões curtas de 20 minutos, simulando um período de uso de 5 anos, e constatou que houve alteração de dureza, sorção e solubilidade, rugosidade, resistência a flexão e resistência ao impacto, sem significância clínica; e alteração de cor perceptível com a solução a 2%. Badaró (2017) verificou, por meio de um estudo piloto, que a concentração inibitória mínima da solução de *R. communis* foi de 6,25% para *C. albicans* e *C. glabrata* enquanto que,

para *S. mutans*, foi de 0,39%. Sendo assim, tornam-se necessários estudos com tais concentrações, verificando a efetividade antimicrobiana frente a estes microrganismos, bem como análise sobre o efeito da imersão nas propriedades da resina acrílica.

Estudos sobre efetividade antimicrobiana das soluções de hipoclorito a 0,20%, Efferdent e à base de *Ricinus communis* a 6,25% são necessários, visto que são soluções viáveis para uso na higienização de próteses totais. Como imersões curtas têm sido recomendadas pelos cirurgiões-dentistas e rotineiramente empregadas pelos usuários de próteses totais, há necessidade de verificação dos efeitos dessas soluções sobre as propriedades da resina acrílica, neste tempo de imersão. Além disso, é importante a realização desta análise simulando uso de 5 anos, período considerado adequado para troca da prótese total (Felton et al., 2011).

A hipótese nula é que não há diferença na ação antimicrobiana das soluções higienizadoras utilizadas e que estas não provocam alterações às propriedades da resina acrílica termicamente ativada.

2. Objetivo

2.1 OBJETIVO GERAL

O OBJETIVO GERAL deste trabalho foi avaliar e comparar, por meio de estudo *in vitro*, o efeito de soluções químicas de higienização quanto à ação antimicrobiana e os efeitos sobre as propriedades da resina acrílica termicamente ativada.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Avaliar e comparar a ação antimicrobiana das soluções de *Ricinus communis* 6,25%, hipoclorito de sódio 0,20% e Peróxido Efferdent, contra biofilme simples de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*;

2.2.2 Avaliar e comparar os efeitos causados sobre espécimes de resina acrílica, após simulação de 05 anos de imersões curtas de 20 minutos, por meio de análise das alterações de:

- Cor;
- Dureza Knoop;
- Rugosidade de superfície;
- Morfologia de superfície;
- Resistência à flexão.

3. *Material e Métodos*

3.1 AÇÃO ANTIMICROBIANA

3.1.1 Confeção dos corpos de prova

Matrizes metálicas circulares (15mm x 3mm) (Seção de Oficinas de Precisão Mecânica, USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil) foram incluídas em muflas convencionais (MAC - Artigos Odontológicos e Prótese Ltda., São Paulo-SP) com gesso tipo IV (Gesso-Rio, Orlando Antônio Bussioli-ME, Rio Claro-SP). Após remoção das matrizes metálicas, a resina acrílica termopolimerizável Clássico (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista/SP, Brasil) foi manipulada segundo instrução do fabricante, prensada em prensa hidráulica (Protecni-Protecni equip. méd., Araraquara, SP, Brasil) e polimerizada (Imersão em água a 73°C por 90 minutos e fervura por 30 minutos), em polimerizadora elétrica (Termocycler T100, Ribeirão Preto-SP) (figura 1A - E).

Figura 1 - A – Matriz metálica para obtenção dos corpos de prova; B – Mufla; C e D – Resina acrílica termopolimerizável Clássico; E – Prensagem da resina acrílica; E – Polimerizadora (Termocycler).

Após a desinclusão, os excessos foram eliminados com micromotor (Dabi Atlante SA Ind. Méd. Odontológicas, Ribeirão Preto-SP) e fresa para recorte da resina acrílica (broca de carboneto de tungstênio- Labordental Ltda., São Paulo- SP). Foi realizado o desgaste e

acabamento de ambas as faces planas de cada corpo de prova em politriz horizontal com lixas d'água de granulação 180 (Norton Abrasivos Brasil, Saint-Gobain, França) (figura 2A-B) até obtenção de um valor padrão de rugosidade entre 2,7-3,7 μ m (Panariello, 2013), aferido por meio de rugosímetro (Surftest SJ-201P, Mitutoyo Corporation, Tokyo, Japão).

Figura 2 - A – Broca empregada para eliminação dos excessos de resina; B – Politriz utilizada para acabamento dos corpos de prova.

3.1.2 Soluções higienizadoras e estabelecimento dos grupos

Os corpos de prova foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de acordo com as soluções, sendo: Grupo I Controle (C): solução tampão Phosphate Buffered Saline (PBS); Grupo II (RC): Solução Experimental de *Ricinus communis* a 6,25% (Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, Brasil); Grupo III (HS): Solução de Hipoclorito de Sódio 0,20% (Inject Center, Ribeirão Preto, SP, Brasil; e Grupo IV (EPC): 200mL de água + 01 pastilha Efferdent® Power Clean Crystals (Medtech Products Inc., Irvington, Estados Unidos).

Foram empregados 117 corpos de prova circulares, sendo 108 para os 4 grupos avaliados, de forma que cada grupo foi constituído por 27 corpos de prova: 9 para cada micro-organismos avaliado e 9 correspondendo aos controles negativos. O grupo controle positivo (GI) teve como objetivo confirmar a contaminação com os micro-organismos e estabelecer parâmetros de comparação, enquanto que o controle negativo (corpo de prova estéril em meio de cultura estéril) foi utilizado para comprovar as condições de esterilização dos corpos de prova e dos procedimentos. O procedimento foi feito em triplicata, ou seja, três corpos de prova

para cada micro-organismo em três momentos distintos para garantir reprodutibilidade do estudo.

Os corpos de prova foram esterilizados por radiação em forno micro-ondas com a imersão em 200mL de água destilada (Perfect, Panasonic, São Paulo, São Paulo, Brasil, Potência 127V; 800W; 2450MHz), a 650W, durante 6 minutos de exposição (Neppelenbroek, 2005; Salles et al., 2015b) (figura 3).

Figura 3 – Corpos de prova em béquer para submissão à esterilização por radiação.

3.1.3. Meios de Cultura

Foram empregados os seguintes Meios de Cultura:

- Sabouraud Dextrose Broth (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, Índia) para preparação do inóculo fúngico e contaminação dos corpos de prova, por 48h em agitação e sob 37°C, de *C. albicans* e *C. glabrata*. Para cada 30g do meio de cultura desidratado foram adicionados 1000mL de água destilada e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, seguindo instruções do fabricante.
- Sabouraud Dextrose Agar (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, Índia). Para semeadura da suspensão obtida após imersão dos corpos de prova contaminados com *C. albicans* e *C. glabrata* nas soluções higienizadoras. Para cada 65g do meio de cultura desidratado foram adicionados 1000mL de água destilada e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, seguindo instruções do fabricante.
- Brain Heart Infusion Broth (BHI): O meio BHI foi acrescido de 5% de glicose e usado para crescimento de *S. mutans* e preparo dos inóculos, seguindo contaminação dos corpos de prova para formação do biofilme. Para seu preparo, 52g do meio desidratado Brain Heart

Infusion Broth (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, Índia) foram adicionados a 1000mL de água destilada e, então, esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, conforme orientação do fabricante.

- Brain Heart Infusion Agar (BHI): Para semeadura da suspensão obtida após imersão dos corpos de prova contaminados com *S. mutans* nas soluções higienizadoras. Para seu preparo, 52g do meio desidratado Brain Heart Infusion Agar (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, Índia) foram adicionados a 1000mL de água destilada e, então, esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, conforme orientação do fabricante.

- Lethen Broth (LB): Os corpos de prova foram transferidos ao meio LB, após a higienização, com objetivo de neutralizar ação de possíveis resíduos dos higienizadores. As semeaduras em placas de Petri foram realizadas a partir de alíquotas deste meio. Também foi utilizado para avaliação da esterilidade a partir da observação da turvação ou não (teste de esterilidade) do meio. Para preparo, 20,7g do meio de cultura desidratado Lethen Broth (Difco Laboratories Inc., Detroit, MI, EUA) e 5g de Tween 80 (Liofilchen, PE, Itália) foram adicionados a 1000mL de água destilada. O meio de cultura foi distribuído em alíquotas de 10mL, em tubo de ensaio, seguindo esterilização em autoclave a 121°C por 15 minutos.

3.1.4 Formação do biofilme e Contaminação dos corpos de prova

Como revelador/indicador da eficácia das soluções higienizadoras, foram utilizadas 3 cepas microbianas, comumente empregadas no controle e monitoramento da atividade antimicrobiana de higienizadores de próteses totais e representativas da microbiota encontrada na cavidade bucal de desdentados totais e próteses dentárias (Cole; Robinson, 1996): *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 2001) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Inicialmente, as cepas das leveduras e bactéria foram descongeladas e cultivadas em caldo Sabouraud dextrose (SD) e Brain Heart Infusion (BHI), respectivamente, por 18 a 24h a 37°C, afim de obter células em fase de crescimento exponencial. Decorrido o período, as amostras foram centrifugadas a 4200g por 5 minutos em Centrífuga 5430R (Eppendorf AG, Hamburgo - Alemanha) (figura 4A-B). O sobrenadante foi descartado e completou-se o volume de 10mL com PBS. As células foram homogeneizadas e centrifugadas novamente. O processo de lavagem foi realizado duas vezes.

Figura 4 - A – Posicionamento das amostras; B – Centrífuga.

Para padronização dos inóculos selecionados, os micro-organismos foram adicionados à solução PBS. A turvação da suspensão contendo *S. mutans* foi verificada em espectrofotômetro, com a leitura da absorvância de 0,1 em comprimento de onda de 625nm, o que corresponde a 10^8 UFC/mL. Para a padronização do inóculo de *Candida* spp. foi utilizada a câmara de Neubauer, devido a morfologia variável do gênero (figura 5A-B). Em seguida, foi realizada a inoculação dos meios de cultura a uma concentração de 1×10^6 UFC/mL (concentração celular inicial para formação do biofilme). Essa concentração foi confirmada através da semeadura em placas de Petri.

Figura 5 – A e B – Espectrofotômetro e Câmara de Neubauer utilizados, respectivamente.

Em câmara de fluxo laminar (Pachane, Pa 400-ECO, Piracicaba, SP, Brasil), os corpos de prova de cada grupo foram distribuídos aleatoriamente em placas para cultura de células, com 12 poços (Techno Plastic Products, Trasadingen, Suíça). Cada poço recebeu 2mL de meio de cultura específico para cada microrganismo avaliado, com exceção do grupo controle negativo, o qual recebeu 2mL de meio de cultura estéril e não foi contaminado. Após período de incubação de 1 hora e 30 minutos (fase de adesão), a 37°C, sob agitação de 75rpm, em estufa

bacteriológica (Incubadora Shaker, Mod. CE-320, CienLab, Campinas, SP, Brasil), cada corpo de prova foi lavado duas vezes com PBS a fim de remover os micro-organismos fracamente aderidos à superfície. A seguir, foi acrescentado 2mL de meio de cultura estéril em cada poço, e as placas foram novamente incubadas a 37°C, sob agitação, por 48h, período esse necessário para a maturação do biofilme (Marra *et al.*, 2012). Completadas 24h, 1mL do meio de cultura foi retirado e 1mL de meio de cultura novo foi acrescentado para garantir o suprimento necessário ao crescimento dos micro-organismos (Lopes *et. al.*, 2014) (figura 6A-F).

Figura 6 - A – Distribuição dos corpos de prova e inóculo microbiano; B e C – Incubação dos corpos de prova em estufa bacteriológica; D – Lavagem com PBS; E – Inserção do meio de cultura; F – Troca do meio após 24 horas.

3.1.5 Aplicação dos métodos de higiene

Para as soluções de hipoclorito de sódio e *Ricinus communis*, com uma pinça esterilizada, cada corpo de prova foi transferido da placa contaminada para tubos de polietileno com tampa rosqueável, contendo 5mL da solução higienizadora, para cada cepa a ser analisada. Os tubos foram levados para a incubadora com agitação de 75rpm, a 37°C, onde ficaram por 20 minutos. Decorrido o período, os corpos de prova foram transferidos para Placas de Petri com água

destilada esterilizada por 5 minutos. Além deste, foram realizados mais 3 enxagues sequenciais afim de remover resíduos dos higienizadores (figura 7A-C).

Figura 7 - A – Transferência dos corpos de prova para o tubo contendo a solução higienizadora; B – Tubos contendo o higienizador; C – Sequência de enxague dos corpos de prova.

Para o peróxido, foi utilizada uma cesta de aço inoxidável (6cm x 3cm x 3cm), com 6 repartições de 2,0cm x 1,5cm. Os corpos de prova contaminados foram transferidos, com pinça esterilizada, das placas de cultura para a cesta, a qual foi imersa em um béquer com 200mL de água destilada esterilizada a temperatura morna ($37 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e adicionado 1 sachê efervescente. Decorrido o período de imersão (3 minutos), a cesta foi transferida para outro contêiner com 200mL de água destilada para lavagem por 5 minutos. Semelhante aos grupos anteriormente descritos, também foram realizados mais 3 enxagues consecutivos. Para o controle negativo, os corpos de prova (sem contaminação) permaneceram em PBS (figura 8A-C).

Figura 8 – A – Cesta com corpos de prova para higienização na solução de peróxido Efferdent; B e C – Sequência de enxague dos corpos de prova.

3.1.6 Avaliação da Ação Antimicrobiana

Após o enxague, os corpos de prova foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10mL de meio de cultura Letheen Broth (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda. Mumbai, Índia). Os tubos foram agitados por 20 minutos em cuba de ultrassom a potência de 200W e frequência de 40KHz (Altsonic, Clean 9CA, Ribeirão Preto, SP, Brasil) visando o desprendimento de qualquer célula microbiana aderida à superfície do corpo de prova (figura 9A-B).

Figura 9 – A – Transferência dos corpos de prova para o meio Letheen;
B – Cuba de ultrassom.

Para a semeadura nos meios de cultura em placas de Petri, a solução Letheen contida nos tubos foi diluída. Para isso, os tubos de ensaio foram individualmente agitados em agitador mecânico (Phoenix® – AP56, Ind. E Com. de Equip. Científicos Ltda, Araraquara, SP, Brasil) e uma alíquota de 50µL da suspensão foi semeada (10^0). A seguir, outra alíquota de 50µL foi transferida para um microtubo (Kasvi Produtos Laboratoriais, São José dos Pinhais – PR, Brasil), contendo 450µL de PBS, obtendo-se uma suspensão diluída (10^{-1}), e dessa solução, procedeu-se uma nova diluição (10^{-2}). Esse procedimento foi realizado três vezes, resultando-se em diluições seriadas de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . As alíquotas de cada diluição foram semeadas em placas de Petri contendo os meios de cultura BHI para *S. mutans* e Sabouraud dextrose para as cepas de *Candida*, e incubadas a 37°C por 24h em estufa microbiológica (figura 10A-F).

Figura 10 - A – Tubos de ensaio posicionados em agitador mecânico; B e C – Semeadura da alíquota sem diluição; D – Alíquotas das soluções diluídas; E – Homogeneização com alça de drigalski em meio específico; F – Placas incubadas em estufa.

Para *S. mutans* a incubação foi realizada em microaerofilia – baixa concentração de oxigênio necessária para o desenvolvimento desse micro-organismo – por meio de jarras apropriadas (Jarra Anaeróbia Acrílica 3,5L, Permution, E. J. Krieger & Cia. Ltda, Curitiba, PR, Brasil) (figura 11A-B).

Figura 11 - A – Placas em jarra de microaerofilia; B – Estufa microbiológica.

Após período de incubação, o número de colônias de cada triplicata foi contado, com o auxílio de uma lupa microscópica (Nikon, modelo 86786, Tóquio, Japão). Para o cálculo das Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) para cada micro-organismo analisado, foi considerada a diluição em que o número de colônias variou entre 1 e 300 e utilizou-se a seguinte fórmula: $\text{UFC/mL} = \text{n}^\circ \text{ de colônias} \times 10^n / q$, sendo n: valor absoluto da diluição (0, 1, 2 ou 3) e q: volume, em mL, pipetada para cada diluição quando da semeadura (0,05mL).

Os tubos de ensaio contendo os corpos de prova imersos em meio Lethen foram incubados a 37°C por até 28 dias em estufa e a turvação do meio foi avaliada diariamente (teste de esterilidade). A turvação do meio indicou o crescimento de micro-organismos.

3.2 AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DAS PROPRIEDADES DA RESINA ACRÍLICA

3.2.1 Confecção dos corpos de prova

A Especificação N° 12 da ANSI/ADA (ISSO 1567) discute a abrangência, os requisitos e os procedimentos para avaliar os plásticos para bases de prótese, incluindo os polímeros acrílicos (Craig, Powers, 2004), bem como estabelece os valores-padrão de suas propriedades para aceitabilidade clínica do material. Sendo assim, a confecção dos corpos de prova seguiu tal recomendação preconizada.

Matrizes metálicas circulares (15mm x 3mm) e retangulares (65mm x 10mm x 3,3mm) (Seção de Oficinas de Precisão Mecânica, USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil) foram incluídas em muflas convencionais (MAC - Artigos Odontológicos e Prótese Ltda., São Paulo-SP) com gesso tipo IV (Gesso-Rio, Orlando Antônio Bussioli-ME, Rio Claro-SP). Após remoção das matrizes metálicas, a resina acrílica termopolimerizável Clássico (Artigos Odontológicos Clássico Ltda., Campo Limpo Paulista/SP, Brasil) foi manipulada segundo instrução do fabricante, prensada em prensa hidráulica (Protecni-Protecniequip. méd., Araraquara, SP, Brasil) e polimerizada (Imersão em água a 73°C por 90 minutos e fervura por 30 minutos), em polimerizadora elétrica (Termocycler T100, Ribeirão Preto-SP) (figura 12A-F).

Figura 12 - A e B – Matriz metálica circular empregada; C e D – Matriz metálica retangular empregada; E – Prensagem da resina acrílica; F – Termopolimerizadora Termocycler.

Após a desinclusão, foi realizada a eliminação dos excessos com micromotor (Dabi Atlante SA Ind. Méd. Odontológicas, Ribeirão Preto-SP) e fresa para recorte da resina acrílica (broca de carboneto de tungstênio- Labordental Ltda., São Paulo- SP). Foi realizado o desgaste e acabamento de ambas as faces planas de cada corpo de prova em politriz horizontal com lixas d'água de diferentes granulações 180, 320, 400, 600 e 1200 (Norton Abrasivos Brasil, Saint-Gobain, França). O polimento final foi realizado em uma das faces com pano de polimento (Fortel Ind. Com, São Paulo, SP, Brasil) e branco de Espanha (Branco Rio – Orlando Antonio Bussioli-ME, Rio Claro-SP, Brasil) em baixa velocidade. Após o polimento, as dimensões de cada corpo de prova foram conferidas com um paquímetro digital (CD-6" CSX-B – Mitutoyo Sul Americana Ltda., Suzano, SP, Brasil) (figura 13A-F).

Figura 13 - A e B – Broca empregada para eliminação dos excessos de resina; C e D – Posicionamento dos corpos de prova em politriz para acabamento; E – Corpo de prova posicionado para polimento; F – Mensuração das medidas dos corpos de prova.

Para estes ensaios, cada corpo de prova circular recebeu duas marcações com broca (PM 701 - Labordental Ltda., São Paulo, SP, Brasil) na face lateral, uma para identificação e outra para posicionamento no aparelho de medição de cor. Os corpos de prova retangulares, no momento da leitura da rugosidade, receberam, com lápis grafite número 02, um número de identificação e 03 marcações para padronização do local de leitura da rugosidade de superfície: uma no centro da lateral do corpo de prova e 02 marcações com distância de 1mm entre si (figura 14A-C).

Figura 14 – A, B e C – Corpos de prova com marcações laterais.

3.2.2 Soluções higienizadoras e estabelecimento dos grupos

Foram empregadas as seguintes soluções: Grupo I Controle (C): Água destilada; Grupo II (RC): Solução Experimental de *Ricinus communis* a 6,25% (Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, Brasil); Grupo III (HS): Solução de Hipoclorito de Sódio 0,20% (Inject Center, Ribeirão Preto, SP, Brasil; e Grupo IV (EPC): 200mL de água + 01 pastilha Efferdent® Power Clean Crystals (Medtech Products Inc., Irvington, Estados Unidos).

Foram utilizados 180 corpos de prova, sendo 80 circulares para os ensaios de alteração de cor e dureza (20 para cada um dos 4 grupos) e 100 retangulares para os ensaios de rugosidade de superfície e resistência à flexão (20 para cada um dos 4 grupos e 20 adicionais, aos quais não foi aplicado nenhum protocolo de imersão, para o ensaio de resistência à flexão, pois trata-se de um ensaio destrutivo).

3.2.3 Procedimentos de Imersão:

Foi realizado um regime de imersão simulando um período de 05 anos de uso (1825 dias) segundo imersões curtas. Para a simulação das imersões, foram empregados 20 (água, hipoclorito e mamona) e 3 (peróxidos) minutos. Cada dia (24 horas), correspondeu a 72 imersões de 20 minutos. Sendo assim, os corpos de prova foram imersos em hipoclorito de sódio a 0,20%, solução de mamona a 6,25% e água por 26 dias continuamente, sendo as soluções trocadas a cada 3 dias. Para os peróxidos alcalinos, foram simuladas imersões diárias de 3 minutos, como indicado pelo fabricante; dessa forma, cada dia correspondeu a 480 imersões de 3 minutos, sendo necessários 04 dias para simular o mesmo período. A solução foi trocada a cada 8h. A temperatura empregada foi ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) para hipoclorito, mamona e água, e, morna ($37 \pm 2^\circ\text{C}$) para os peróxidos alcalinos, conforme instruções do fabricante.

Antes (T0) e após as imersões (T1), os corpos de prova foram avaliados quanto às propriedades de cor, dureza, rugosidade de superfície, morfologia da superfície e resistência à flexão.

3.2.4 Análise das propriedades da resina acrílica

3.2.4.1 Cor

As medidas de cor foram realizadas com espectrocolorímetro portátil (Color Guide 45/0, BYK – Gardner GmbH, Geretsried, Alemanha) e obtidas no sistema de cor CIELab, recomendado pela Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (Liberman et al., 1995). Os corpos de prova foram posicionados com a superfície polida voltada para a abertura de medição de cor e a marcação da superfície lateral voltada para a parte anterior do aparelho (figura 15A-B). Foi utilizada iluminação padronizada D65, ângulo de observação de 10° e fonte de luz com espectro visível (400 a 700nm). A geometria de medição foi 45/0. Os valores de ΔL^* , Δa^* e Δb^* , correspondendo à diferença dos valores de L^* , a^* , b^* , respectivamente, foram calculados automaticamente antes e após as imersões. A mudança total de cor (ΔE) foi calculada, por meio da seguinte fórmula: $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$. Para relacionar as diferenças de cor (ΔE^*) à realidade clínica, os dados foram calculados de acordo com as unidades da National Bureau of Standards (NBS) (Polyzois et al., 1997) por meio da fórmula: Unidades NBS = $\Delta E^* \times 0,92$ e posteriormente classificados de acordo com a escala: indicial: 0,0 – 0,5; leve: 0,5–1,5; perceptível: 1,5–3,0; considerável: 3,0–6,0; muito: 6,0–12,0; excessiva: 12,0 – +.

Figura 15 - A – Espectrocolorímetro; B – Posicionamento dos corpos de prova no aparelho.

3.2.4.2 Dureza

Para as leituras de dureza Knoop, a superfície dos corpos de prova foi dividida em 4 quadrantes. Cada quadrante foi submetido à duas leituras de dureza em um Microdurômetro “Microhardness Tester Shimadzu”, modelo HMV-2 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) com uma carga de 25g por 5 segundos (Peyton, 1975; Pisani et al., 2010, 2012a). A medida final de dureza para cada corpo de prova foi o resultado da média dos 08 valores encontrados. A análise foi realizada com os valores de ΔHK ($D_f - D_i$) (figura 16A-B).

Figura 16 - A e B – Posicionamento dos corpos de prova em Microdurômetro.

3.2.4.3 Rugosidade de Superfície

A rugosidade de superfície foi avaliada por meio de rugosímetro (Surftest SJ - 201P, Mitutoyo Corporation, Tokyo, Japão) e microscópio confocal a laser 3D (Olympus® LEXT OLS4000, Japão), o qual permite avaliação através de imagens 3D obtidas das áreas mais representativas dos corpos de prova.

Para análise em rugosímetro, para cada corpo de prova retangular, foram realizadas três leituras na face superior, equivalendo às marcações feitas anteriormente (uma no centro da lateral do corpo de prova e as outras duas com distâncias de 1mm) com 05 cutoffs (λ_c) de 0,8mm, totalizando um comprimento avaliado (l_n) de 4,0mm para cada leitura, com velocidade de 0,5mm/s. Ao final foi calculada a média aritmética destas três medidas, em micrometros (μm). A alteração da rugosidade superficial foi avaliada pelo cálculo da diferença de rugosidade dos corpos de prova (em micrometros - μm) antes e após as imersões ($R_{af} - R_{ai}$) (figura 17).

Figura 17 – Posicionamento dos corpos de prova em rugosímetro para leitura da rugosidade de superfície.

Para análise em Microscópio Confocal a Laser 3D (Olympus® LEXT OLS4000, Japão), foram utilizados 3 corpos de prova de cada grupo (acrescido do grupo Controle Sem Imersão), os quais foram posicionados paralelamente à mesa do microscópio confocal a laser e capturadas 3 imagens aleatórias. As imagens foram realizadas com objetiva de 5x, com aumento final de 108x (figura 18A-B).

Figura 18 - A e B – Posicionamento dos corpos de prova em Microscópio Confocal a Laser 3D, para análise da rugosidade de superfície.

3.2.4.4 Morfologia da Superfície

Para análise da morfologia de superfície no microscópio eletrônico de varredura (EVO 10, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Alemanha), foi empregado um corpo de prova de cada grupo (acrescido do grupo Controle Sem Imersão) após as imersões. As superfícies dos

espécimes foram fixadas em stubs e submetidas à metalização com ouro para posterior observação. Uma análise qualitativa foi realizada a partir das imagens obtidas, buscando a observação de alterações na superfície da resina acrílica após a imersão (figura 19A-B).

Figura 19 - A – Nuvem de ouro durante metalização dos corpos de prova; B – Corpos de prova metalizados para análise da morfologia de superfície.

3.2.4.5 Resistência à Flexão

Os corpos de prova retangulares foram levados à Máquina Universal de Ensaio (DL 2000 - EMIC, São José dos Pinhais – PR, Brasil) e submetidos à flexão em três pontos, continuamente até a fratura, sendo posicionados sobre dois apoios paralelos entre si, localizados a 50mm um do outro, e força de flexão aplicada por uma ponta ligada a uma célula de carga de 50Kgf, a uma velocidade de 5mm/min (figura 20). A carga de fratura dos corpos de prova foi convertida para resistência à flexão por meio da equação 1.

$$S = \frac{3 \times P \times L}{2 \times b \times d^2} \quad (1)$$

Sendo: S = resistência à flexão, P= carga máxima aplicada em N, L = distância entre os dois pontos de apoio, b = largura do corpo de prova, d = espessura do corpo de prova.

O cálculo da flexão máxima do corpo de prova imediatamente antes da ruptura foi feito através da curva T (tensão) x D (deformação), obtido no impresso da máquina de ensaios. Os resultados foram expressos em MPa.

Figura 20 – Corpo de prova posicionado para ensaio de resistência à flexão.

3.3 ANÁLISE DOS DADOS

O conjunto de resultados foi avaliado quanto à distribuição de normalidade (Teste de Shapiro-Wilk). Para a ação Antimicrobiana, os resultados obtidos contra *S. mutans* apresentaram distribuição não normal e foi aplicado teste de Kruskal-Wallis e pós teste de Dunn. *C. albicans* e *C. glabrata* apresentaram distribuição normal e foi aplicada ANOVA e pós teste de Tukey. Os resultados dos efeitos às propriedades da resina acrílica apresentaram distribuição não normal e foi aplicado teste de Kruskal-Wallis e quando verificada diferença entre os grupos se utilizou pós teste de Dunn, com exceção apenas da análise da rugosidade em Microscópio confocal a laser 3D, a qual apresentou distribuição normal e foi aplicada ANOVA e pós teste de Tukey. Foi utilizado o programa estatístico IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM® Corporation, Armonk, NY, EUA).

Para análise estatística, o número da contagem de Unidades Formadoras de Colônias foi transformado em Log₁₀, visando normalidade dos resíduos. Para isso, a contagem de UFC de todos os grupos foi acrescida de 1. O grupo hipoclorito não foi comparado aos demais grupos na análise estatística porque reduziu a zero a contagem de UFC.

4. Resultados

4.1 AÇÃO ANTIMICROBIANA

4.1.1 *Candida albicans*

As tabelas 1 e 2 apresentam os resultados da contagem de UFC+1 (Log_{10}) de *C. albicans* e da análise estatística empregada, respectivamente.

Tabela 1 - Valores da contagem de UFC+1 (Log_{10}) para *Candida albicans*.

Corpos de prova	G I (Controle)	G II (RC 6,25%)	G III HS (0,20%)	G IV (EPC)
1	4,54	5,10	0,00	4,01
2	4,76	5,58	0,00	4,78
3	4,64	4,82	0,00	3,93
4	4,97	4,09	0,00	4,53
5	5,29	3,70	0,00	4,53
6	5,47	4,25	0,00	4,59
7	4,90	4,63	0,00	5,45
8	4,87	4,30	0,00	5,28
9	4,89	4,31	0,00	4,80

Tabela 2 - Análise de variância para *Candida albicans*.

Fonte	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	P
Higienizadores	0,736	2	0,368	1,656	0,212
Erro	5,331	24	0,222		
Total	6,067	26			

Tabela 3 - Média (desvio padrão) da contagem de UFC+1 (Log₁₀) para *Candida albicans* e comparações estatísticas (ANOVA).

	GRUPOS		
	I (Controle)	II (RC 6,25%)	IV (EPC)
Média (desvio padrão)	4,93 (0,29)	4,53 (0,57)	4,66 (0,51)
P	0,212		

Figura 21 - Bloxplot do resultado da contagem de UFC+1 (Log₁₀) de *Candida albicans*.

O Hipoclorito reduziu a zero a contagem de UFC. Não foi encontrada diferença entre os demais grupos ($p=0,212$) (tabela 3, figura 21).

4.1.2 *Candida glabrata*

As tabelas 4 e 5 apresentam os resultados da contagem de UFC+1 (Log_{10}) de *C. glabrata* e da análise estatística empregada, respectivamente.

Tabela 4 - Valores de UFC+1 (Log_{10}) para *Candida glabrata*.

Corpos de prova	G I	G II	G III	G IV
	(Controle)	(RC 6,25%)	(HS 0,20%)	(EPC)
1	6,11	5,80	0,00	5,72
2	6,18	5,64	0,00	5,71
3	6,04	5,68	0,00	5,84
4	6,21	5,41	0,00	6,11
5	6,31	5,24	0,00	5,74
6	6,00	5,06	0,00	6,13
7	5,45	5,54	0,00	5,93
8	5,81	5,24	0,00	6,26
9	5,72	4,82	0,00	5,95

Tabela 5 - Análise de variância para *Candida glabrata*.

Fonte	Soma dos	Graus de	Quadrado	F	P
	Quadrados	liberdade	Médio		
Higienizadores	2,017	2	1,009	13,875	<0,001
Erro	1,745	24	0,073		
Total	3,762	26			

Tabela 6 - Média (desvio padrão) da contagem de UFC+1 (Log_{10}) para *Candida glabrata* e comparações estatísticas (ANOVA e Teste de Tukey).

	GRUPOS		
	I	II	IV
	(Controle)	(RC 6,25%)	(EPC)
Média			
(desvio padrão)	5,98 ^a (0,27)	5,38 ^b (0,32)	5,93 ^a (0,20)
P	<0,001		

^{ab} Letras iguais indicam semelhança estatística $p > 0,05$ (Teste de Tukey).

Figura 22 - Boxplot do resultado da contagem de UFC+1 (Log_{10}) para *Candida glabrata*.

O Hipoclorito reduziu à zero a contagem de UFC. Foram encontradas diferenças entre os demais grupos ($p < 0,001$). O grupo do *Ricinus communis* reduziu significativamente o número de UFC comparado ao grupo Controle ($p < 0,001$) e ao Peróxido ($p = 0,001$). Não houve diferença entre o Peróxido e o grupo Controle ($p = 0,915$) (tabela 6, figura 22).

4.1.3 *Streptococcus mutans*

As tabelas 7 e 8 apresentam os resultados da contagem de UFC+1 (Log_{10}) de *S. mutans* e da análise estatística empregada, respectivamente.

Tabela 7 - Valores da contagem de UFC+1 (Log_{10}) para *Streptococcus mutans*.

Corpo de prova	G I	G II	G III	G IV
	(Controle)	(RC 6,25%)	(HS 0,20%)	(EPC)
1	7,26	6,36	0,00	4,79
2	6,92	7,09	0,00	5,67
3	6,55	6,43	0,00	4,81
4	7,10	7,02	0,00	5,17
5	7,11	7,31	0,00	4,16
6	6,06	6,91	0,00	6,01
7	7,09	7,08	0,00	3,56
8	7,08	6,86	0,00	3,60
9	6,89	7,32	0,00	4,61

Tabela 8 - Medianas (intervalos de confiança) da contagem de UFC+1 (Log_{10}) para *S. mutans* e comparações estatísticas (Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).

	GRUPOS		
	I	II	IV
	(Controle)	(RC 6,25%)	(EPC)
Mediana			
(intervalo de confiança)	7,08 ^a (6,61;7,18)	7,02 ^a (6,67;7,19)	4,79 ^b (4,06;5,36)
P	<0,001		

^{ab} Letras iguais indicam semelhança estatística $p > 0,05$ (Teste de Dunn).

Figura 23 - Boxplot do resultado da contagem de UFC+1 (Log_{10}) para *S. mutans*.

O Hipoclorito reduziu a zero a contagem de UFC. Foram encontradas diferenças significantes entre os demais grupos ($p < 0,001$). O Peróxido reduziu significativamente o UFC quando comparado ao Controle ($p = 0,001$) e *R. communis* ($p = 0,001$). Não houve diferença significativa entre *R. communis* e o Controle ($p = 1,00$) (tabela 8, figura 23).

4.2 ANÁLISE DA ALTERAÇÃO DAS PROPRIEDADES

4.2.1 Cor

As tabelas 9 e 10 apresentam os resultados de Cor (ΔE e NBS) e da análise estatística empregada (Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn), respectivamente. A figura 24 apresenta o boxplot da alteração de Cor (ΔE).

Tabela 9 - Alteração de cor (ΔE e NBS) dos corpos de prova e respectivas classificações segundo NBS.

Corpos de Prova	GRUPOS							
	I		II		III		IV	
	(Controle)		(RC 6,25%)		(HS 0,20%)		(EPC)	
	ΔE	NBS	ΔE	NBS	ΔE	NBS	ΔE	NBS
1	0,71	0,65	1,12	1,03	0,37	0,34	4,54	4,18
2	0,62	0,57	1,62	1,49	0,35	0,32	0,33	0,30
3	0,72	0,66	1,05	0,97	0,34	0,31	2,84	2,61
4	0,97	0,89	2,88	2,95	0,55	0,51	0,27	0,25
5	0,50	0,46	2,04	1,88	0,42	0,39	1,34	1,24
6	0,80	0,74	1,09	1,00	0,43	0,40	0,50	0,46
7	2,42	2,23	0,22	0,20	0,50	0,46	0,37	0,34
8	2,90	2,67	0,77	0,71	0,64	0,59	0,59	0,54
9	0,85	0,78	1,09	1,00	0,94	0,86	0,48	0,44
10	0,53	0,49	1,01	0,93	0,38	0,35	0,94	0,86
11	0,34	0,31	1,12	1,03	0,37	0,34	0,40	0,37
12	0,44	0,40	1,65	1,52	0,62	0,57	0,63	0,58
13	0,46	0,42	0,86	0,79	0,34	0,31	0,37	0,34
14	0,62	0,57	1,01	0,93	0,40	0,37	0,69	0,63
15	0,37	0,34	0,96	0,88	0,73	0,67	1,24	1,14
16	1,10	1,01	0,97	0,89	0,40	0,37	1,44	1,32
17	0,89	0,82	0,84	0,77	0,93	0,86	0,19	0,17
18	0,55	0,51	1,05	0,97	0,32	0,29	0,82	0,75
19	0,50	0,46	3,94	3,62	0,40	0,37	0,80	0,74
20	0,69	0,63	2,09	1,92	0,88	0,81	0,52	0,48
Média	0,85	0,78	1,37	1,27	0,52	0,47	0,96	0,89
Classificação NBS	LEVE		LEVE		INDICIAL		LEVE	

Tabela 10 - Medianas (intervalos de confiança) do ΔE e comparações estatísticas (Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).

	GRUPOS			
	I (Controle)	II (RC 6,25%)	III (HS 0,20%)	IV (EPC)
Mediana (intervalo de confiança)	0,66 ^a (0,54; 1,16)	1,07 ^b (0,98; 1,76)	0,41 ^a (0,42; 0,61)	0,61 ^a (0,48; 1,45)
P	<0,001			

^{ab}Letras iguais indicam semelhança estatística $p > 0,05$ (Teste de Dunn).

Após aplicação do Teste de Kruskal-Wallis, verificou-se diferença significativa para a alteração de Cor ($p < 0,001$). Após a aplicação do teste de Dunn, verificou-se que o grupo do *R. communis* apresentou alteração de cor significativa quando comparada aos demais grupos (Controle – $p = 0,030$; Hipoclorito – $p < 0,001$; Peróxido – $p = 0,011$). Segundo a escala de classificação NBS, o grupo do hipoclorito apresentou alteração considerada “indicial”, enquanto que os demais grupos tiveram alterações rotuladas “leves”.

4.2.2 Dureza

As tabelas 11 e 12 apresentam os resultados iniciais e finais de dureza e da análise estatística empregada, respectivamente. A figura 25 apresenta o boxplot da variação da Dureza (ΔHK).

Tabela 11 - Médias da dureza Knoop (KNH - kg/mm²) antes (Di) e após (Df) as imersões.

Corpos de Prova	GRUPOS											
	I (Controle)			II (RC 6,25%)			III (HS 0,20%)			IV (EPC)		
	Di	Df	ΔHK	Di	Df	ΔHK	Di	Df	ΔHK	Di	Df	ΔHK
1	17,3	19,4	2,1	19,7	22,6	2,9	18,5	20,6	2,1	16,7	21,0	4,3
2	18,6	19,8	1,2	19,4	22,2	2,8	19,6	17,3	-2,3	17,0	19,3	2,3
3	18,5	19,6	1,1	18,9	23,6	4,7	19,7	20,6	0,9	17,3	20,5	3,2
4	18,2	20,0	1,8	19,7	21,0	1,3	19,1	19,7	0,6	18,1	20,2	2,1
5	18,7	18,6	-0,1	18,4	25,0	6,6	19,3	20,7	1,4	19,5	19,7	0,2
6	19,0	19,4	0,4	18,7	22,5	3,8	19,0	18,6	-0,4	19,4	19,7	0,3
7	18,7	18,7	0,0	18,2	22,9	4,7	18,7	18,7	0,0	20,3	19,8	-0,5
8	19,5	17,9	-1,6	18,7	24,6	5,9	19,0	18,0	-1,0	20,2	18,8	-1,4
9	22,1	17,0	-5,1	18,7	20,8	2,1	19,1	19,0	-0,1	17,1	18,3	1,2
10	21,7	17,9	-3,8	18,8	19,6	0,8	18,7	18,2	-0,5	19,9	18,7	-1,2
11	17,5	17,2	-0,3	18,4	21,5	3,1	18,1	18,0	-0,1	20,0	18,5	-1,5
12	17,8	17,6	-0,2	19,6	22,0	2,4	18,3	19,2	0,9	18,9	19,1	0,2
13	17,8	18,2	0,4	18,8	22,0	3,2	18,7	19,2	0,5	19,3	18,4	-0,9
14	18,7	18,0	-0,7	18,3	19,4	1,1	18,0	18,9	0,9	18,4	20,4	2,0
15	18,3	18,4	0,1	19,7	22,9	3,2	18,4	18,3	-0,1	18,1	18,5	0,4
16	19,0	19,6	0,6	21,0	21,9	0,9	18,5	18,5	0,0	18,5	18,4	-0,1
17	19,0	17,9	-1,1	20,1	22,5	2,4	19,3	19,3	0,0	18,6	19,7	1,1
18	19,5	19,2	-0,3	19,5	20,7	1,2	18,8	18,9	0,1	19,7	18,9	-0,8
19	18,0	18,2	0,2	21,2	21,1	-0,1	18,7	18,6	-0,1	19,2	18,7	-0,5
20	19,2	19,0	-0,2	17,8	23,0	5,2	18,5	19,3	0,8	19,3	19,7	0,4

Tabela 12 - Medianas (intervalos de confiança) do ΔHK e comparações estatísticas (Testes de Kruskal-Wallis e posterior teste de Dunn).

	GRUPOS			
	I (Controle)	II (RC 6,25%)	III (HS 0,20%)	IV (EPC)
Mediana (intervalo de confiança)	-0,05 ^a (-1,07; 0,52)	2,85 ^b (2,06; 3,76)	0,05 ^a (-0,23; 0,54)	0,25 ^a (-0,20; 1,28)
P	<0,001			

^{ab}Letras iguais indicam semelhança estatística ($p > 0,05$). (Teste de Dunn).

Verificou-se diferença significativa para a variação de dureza ($p < 0,001$). Após a aplicação do teste de Dunn verificou-se que o *R. communis* causou maior variação de dureza, quando comparada aos demais grupos (Controle e Hipoclorito – $p < 0,001$; Peróxido – $p = 0,001$).

4.2.3 Rugosidade de Superfície

4.2.3.1 Rugosímetro

As tabelas 13 e 14 apresentam os resultados iniciais e finais, bem como a variação de rugosidade e da análise estatística empregada, respectivamente. A figura 26 apresenta o boxplot da variação da Rugosidade (ΔRa).

Tabela 13 - Valores da rugosidade (μm) dos corpos de prova antes (Rai) e após (Raf) as imersões, e respectivas variações (ΔRa).

Corpos de prova	GRUPOS											
	I			II			III			IV		
	(Controle)			(RC 6,25%)			(HS 0,20%)			(EPC)		
	Rai	Raf	ΔRa	Rai	Raf	ΔRa	Rai	Raf	ΔRa	Rai	Raf	ΔRa
1	0,03	0,05	0,02	0,07	0,09	0,02	0,06	0,08	0,02	0,07	0,05	-0,02
2	0,06	0,09	0,03	0,06	0,05	-0,01	0,05	0,13	0,08	0,06	0,04	-0,02
3	0,07	0,05	-0,02	0,08	0,10	0,02	0,05	0,06	0,01	0,04	0,04	0,00
4	0,05	0,05	0,00	0,06	0,12	0,06	0,12	0,10	-0,02	0,05	0,05	0,00
5	0,07	0,07	0,00	0,05	0,04	0,01	0,08	0,07	-0,01	0,06	0,07	0,01
6	0,05	0,05	0,00	0,07	0,07	0,00	0,05	0,08	0,03	0,06	0,06	0,00
7	0,05	0,05	0,0	0,03	0,08	0,05	0,05	0,04	-0,01	0,02	0,02	0,00
8	0,10	0,11	0,01	0,11	0,25	0,14	0,04	0,07	0,03	0,06	0,07	0,01
9	0,03	0,04	0,01	0,06	0,10	0,04	0,08	0,16	0,08	0,06	0,08	0,02
10	0,05	0,06	0,01	0,08	0,24	0,16	0,07	0,07	0,00	0,08	0,11	0,03
11	0,06	0,08	0,02	0,05	0,09	0,04	0,04	0,05	0,01	0,04	0,10	0,06
12	0,13	0,13	0,00	0,06	0,07	0,01	0,09	0,12	0,03	0,06	0,07	0,01
13	0,14	0,05	-0,10	0,05	0,08	0,03	0,07	0,07	0,00	0,09	0,07	-0,02
14	0,06	0,05	-0,01	0,03	0,04	0,01	0,04	0,05	0,01	0,06	0,06	0,00
15	0,05	0,05	0,00	0,08	0,08	0,00	0,04	0,05	0,01	0,03	0,02	-0,01
16	0,10	0,09	-0,01	0,02	0,09	0,07	0,07	0,10	0,03	0,04	0,05	0,01
17	0,10	0,10	0,00	0,08	0,11	0,03	0,07	0,10	0,03	0,07	0,09	0,02
18	0,03	0,04	0,01	0,07	0,07	0,0	0,05	0,05	0,00	0,07	0,07	0,00
19	0,10	0,08	-0,02	0,04	0,05	0,01	0,04	0,05	0,01	0,04	0,05	0,01
20	0,12	0,13	0,01	0,06	0,08	0,02	0,03	0,04	0,01	0,05	0,05	0,00

Tabela 14 - Medianas (intervalos de confiança) do ΔRa (μm) e comparações estatísticas. (Testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).

	GRUPOS			
	I (Controle)	II (RC 6,25%)	III (HS 0,20%)	IV (EPC)
Mediana (intervalo de confiança)	0,00 ^a (-0,02; 0,01)	0,02 ^b (0,01; 0,06)	0,01 ^{ab} (0,00; 0,03)	0,00 ^a (0,00; 0,02)
P	0,003			

^{ab} Letras iguais indicam semelhança estatística ($p > 0,05$) (Teste de Dunn).

Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos no tempo inicial ($p=0,531$), mostrando homogeneidade entre os grupos antes do início das imersões. Após a imersão, observou-se diferença significativa na variação da rugosidade (ΔRa) entre os grupos ($p=0,033$). Realizado o teste de Dunn, verificou-se que o grupo do *R. communis* foi estatisticamente diferente do Controle ($p=0,006$) e Peróxido ($p=0,027$). O Hipoclorito apresentou valores intermediários.

5.2.3.2 Microscopia Confocal a Laser 3D

A figura 27 apresenta uma das nove imagens tridimensionais obtidas de cada grupo em Microscopia Confocal para análise da rugosidade de superfície em S_a (μm^2).

Figura 27 - Imagens tridimensionais obtidas com Microscopia Confocal (aumento 108x).

A tabela 15 apresenta os valores em S_a (μm^2) da rugosidade de superfície das 9 imagens avaliadas de cada grupo (3 imagens de cada um dos 3 corpos de prova). As tabelas 16 e 17 apresentam os resultados de análise estatística empregada. A figura 28 apresenta o boxplot da variação da rugosidade em S_a (μm^2).

Tabela 15 - Valores de S_a (μm^2) após a imersão nas soluções higienizadoras e valores do SI (Controle Sem Imersão).

Imagem	Grupos				
	SI	G I	G II	G III	G IV
	(Sem Imersão)	(Controle)	(RC 6,25%)	(HS 0,20%)	(EPC)
1	0,286	0,348	0,349	0,306	0,498
2	0,213	0,334	0,403	0,336	0,358
3	0,26	0,331	0,504	0,312	0,373
4	0,333	0,28	0,45	0,272	0,278
5	0,34	0,269	0,401	0,253	0,269
6	0,432	0,267	0,54	0,296	0,262
7	0,359	0,246	0,349	0,338	0,351
8	0,361	0,238	0,366	0,352	0,351
9	0,356	0,229	0,329	0,289	0,31

Tabela 16 - Análise de variância para rugosidade de superfície em S_a (μm^2).

Fonte	Soma dos	Graus de	Quadrados	F	P
	Quadrados	liberdade	Médios		
Higienizadores	0,084	4	0,021	5,831	0,001
Erro	0,144	40	0,004		
Total	0,227	44			

Tabela 17 - Médias (desvios padrões) do Sa (μm^2) e comparações estatísticas entre os grupos.

	GRUPOS				
	SI (Sem Imersão)	I (Controle)	II (RC 6,25%)	III (HS 0,20%)	IV (EPC)
Média	0,327 ^a	0,282 ^a	0,410 ^b	0,306 ^a	0,339 ^{ab}
(desvio padrão)	(0,065)	(0,044)	(0,074)	(0,032)	(0,073)
P	0,001				

^{ab}Letras iguais indicam semelhança estatística $p > 0,05$ (Teste de Tukey).

Foi verificada diferença significativa entre os higienizadores ($p=0,001$). Ao realizar a comparação entre grupos (teste de Tukey), verificou-se que o grupo do *R. communis* apresentou valores significativamente maiores de Sa quando comparado ao Controle ($p<0,001$), ao Hipoclorito ($p=0,006$) e ao Controle Sem Imersão ($p=0,040$). O Peróxido apresentou valores intermediários.

4.2.5 Análise da Morfologia de Superfície

Os resultados da Microscopia Eletrônica de Varredura estão apresentados na figura 29.

Figura 29 - Fotomicrografia (aumento de 1000x) dos corpos de prova representativos dos grupos avaliados.

As imagens mostram que as maiores e menores alterações ocorreram nos grupos do Peróxido e Hipoclorito, respectivamente, quando comparados ao grupo Controle Sem Imersão.

4.2.4 Resistência à Flexão

As tabelas 18 e 19 apresentam, respectivamente, os resultados da resistência à flexão e da análise estatística empregada. A figura 30 apresenta o boxplot da resistência à flexão (MPa).

Tabela 18 - Valores da resistência à flexão (MPa) dos corpos de prova antes (controle seco) e após as imersões.

Corpos de Prova	GRUPOS				
	SI (Sem Imersão)	I Controle	II RC 6,25%	III HS 0,20%	IV (EPC)
1	100,08	96,62	87,13	94,04	91,45
2	103,24	100,97	74,90	67,79	101,98
3	102,98	72,52	63,07	83,77	91,12
4	84,62	91,77	101,95	91,44	72,17
5	105,27	95,29	70,85	85,11	92,60
6	106,84	88,15	56,21	71,46	98,51
7	101,15	92,01	71,22	82,09	103,15
8	83,87	96,93	73,88	83,82	100,58
9	78,94	85,75	67,39	77,98	92,68
10	100,33	89,23	56,40	103,41	103,88
11	84,52	94,64	82,77	80,46	103,63
12	95,07	89,79	76,23	83,90	104,18
13	86,76	86,48	73,20	104,95	105,07
14	90,49	103,75	77,14	103,73	97,43
15	103,79	84,06	72,85	85,78	114,26
16	94,78	75,39	75,17	91,86	101,30
17	94,22	92,10	79,01	87,22	99,54
18	104,16	87,10	77,86	90,38	105,97
19	97,75	87,90	66,16	96,66	100,42
20	104,14	90,37	80,29	98,38	114,58

Tabela 19 - Medianas (intervalos de confiança) da resistência (MPa) e análise estatística (testes de Kruskal-Wallis e de Dunn).

	GRUPOS				
	SI	I	II	III	IV
	(Sem Imersão)	(Controle)	(RC 6,25%)	(HS 0,20%)	(EPC)
Mediana (intervalo de confiança)	98,92 ^{ab} (92,16; 100,14)	90,08 ^{ab} (86,39; 93,49)	74,39 ^c (69,39; 78,98)	86,50 ^b (83,45; 92,97)	100,94 ^a (95,46; 103,99)
P	<0,001				

^{ab} Letras iguais indicam semelhança estatística ($p > 0,05$) (Teste Dunn).

Para a resistência à flexão, o Peróxido apresentou os maiores valores, com diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo do *R. communis* ($p < 0,001$) e ao Hipoclorito ($p = 0,014$). Além disso, o *R. communis* apresentou os menores valores de resistência com diferença significativa em relação ao Controle ($p = 0,006$), ao Hipoclorito ($p = 0,025$) e ao Sem Imersão ($p < 0,001$).

5. Discussão

Soluções higienizadoras de próteses totais devem apresentar efetividade na remoção do biofilme e ação antimicrobiana frente a diferentes micro-organismos, de forma que não causem efeitos deletérios na resina acrílica (Council on Dental Materials, Instruments and Equipments, 1983). O presente estudo avaliou, por meio de estudo *in vitro*, o efeito de soluções químicas de higienização quanto à ação antimicrobiana e os efeitos sobre as propriedades da resina acrílica termicamente ativada. A ação antimicrobiana avaliou o biofilme simples de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*, visto que são micro-organismos comumente presentes na cavidade bucal de usuários de próteses totais (Cole; Robinson, 1996). O método isolado de imersão foi utilizado, uma vez que pode ocorrer sinergismo de ação quando o higienizador é usado em associação com método mecânico de higiene (Paranhos et al., 2009). Ciclos curtos de imersão (3-20 minutos) tem sido recomendado pela literatura, desde que essas soluções sejam efetivas no controle do biofilme protético. Dessa forma, o ciclo curto com imersão de 20 minutos foi empregado; simulando cinco anos de uso, tempo indicado para a troca das próteses totais (Felton et al., 2011). A hipótese nula deste trabalho foi parcialmente atendida uma vez que houve diferença na ação antimicrobiana das soluções testadas, porém não causaram alterações clinicamente relevantes nas propriedades da resina acrílica termicamente ativada.

Os resultados mostraram que a solução de hipoclorito de sódio a 0,20% foi efetiva frente a *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*, reduzindo a zero a contagem de UFC dos três micro-organismos. Estudos clínicos mostraram efetividade das soluções de hipoclorito a 2,25% (Catão et al., 2007), 1% (Andrade et al., 2014), e 0,5% (Kulak et al., 1997; Peracini et al., 2016), frente a remoção do biofilme de próteses totais. Em relação a ação antimicrobiana, soluções a 0,5% foram efetivas frente a *Candida albicans* (Montagner et al., 2009), *Candida albicans* e *Candida glabrata* (Fernandes et al., 2011; Vieira et al., 2010), cepas de *Candida* spp. (Porta et al., 2015), *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (Salles et al., 2015a,); *Streptococcus mutans*, cepas de *Candida* e microrganismos gram negativos (Salles et al., 2015b; Badaró et al., 2017). Concentrações mais diluídas vem sendo avaliadas com o intuito de minimizar os efeitos aos componentes do aparelho protético. Desta forma, estudos relatam que a solução de hipoclorito de sódio a 0,25% teve ação antimicrobiana frente *C. albicans*, *C. glabrata*, *S. mutans*, *B. subtilis*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* (Salles et al., 2015a,); *S. mutans*, cepas de *Candida* e

microrganismos gram negativos (Salles et al., 2015b; Badaró et al., 2017) e foi efetivo na remoção de biofilme de próteses totais e remissão de candidíase (Badaró et al., 2017). Arruda et al. (2017) mostraram que as soluções de hipoclorito a 0,20% e 0,10% foram efetivas na remoção do biofilme de próteses totais, porém a ação antimicrobiana foi somente frente as cepas de *Candida*. O presente estudo mostrou que a solução de hipoclorito a 0,20% foi eficaz contra os micro-organismos comumente presentes na cavidade oral de pacientes usuários de prótese.

Analisando os efeitos causados às propriedades da resina acrílica, a solução de hipoclorito de sódio a 0,20% também apresentou resultados satisfatórios, uma vez que não causou alteração de cor significativa, sendo classificada como “indicial” segundo NBS. Além disso, essa solução não foi capaz de alterar a dureza, a rugosidade de superfície ou a resistência à flexão. Foram observadas alterações insignificantes na morfologia de superfície, com os menores valores, quando comparado com as alterações causadas pelas demais soluções testadas. A literatura mostra que a maioria dos estudos em relação as alterações das propriedades da resina acrílica é *in vitro* e há relatos onde a solução de hipoclorito a 1% provocou alteração de cor na desinfecção de resina acrílica (McNeme et al., 1991); cor, rugosidade e resistência a flexão em 5 meses (Davi et al, 2010), 6 meses (Paranhos et al., 2009b) e 1 ano e meio de uso (Pisani et al., 2012). Na concentração de 0,5% a literatura mostra a ocorrência de alterações de cor na resina e no metal, rugosidade de superfície e resistência a flexão (Lima et al., 2006; Paranhos et al., 2009b; Paranhos et al., 2013,2014; Arruda et al., 2015; Badaró et al., 2016). No entanto, estudos mostram que essa concentração do hipoclorito de sódio não alterou a cor e rugosidade de superfície, simulando de 90 dias de uso (Porta et al., 2015). Em concentração mais diluídas, como 0,25%, há relatos nas alterações de cor, dureza, sorção, solubilidade, rugosidade, resistência a flexão e resistência ao impacto (Bueno, 2016; Badaró et al., 2016). Em concentrações de 0,10% e 0,20%, Arruda (2014) mostrou que houve alteração na propriedade de cor, mas sem significância clínica, classificadas como “leves” segundo a NBS; e, para as propriedades de rugosidade de superfície e resistência à flexão, não houve diferença estatística entre as soluções.

Em relação a solução de *Ricinus communis* a 6,25%, os resultados mostraram que esta solução teve ação contra *Candida glabrata*, diminuindo significativamente o número de UFC, porém não teve ação sobre a *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. Há poucos relatos na literatura sobre a efetividade da solução de *R. communis* como solução higienizadora de próteses totais. Estudos mostraram efetividade da solução a 2% frente às cepas de *Candida* e *S.*

mutans, e ação moderada quanto a remoção de biofilme da superfície de próteses totais inferiores reembasadas (Malheiros-Segundo et al., 2014) e da superfície de próteses totais superiores (Andrade et al., 2014). Na remissão da estomatite protética, um colutório bucal de *R. communis* a 3,3% apresentou efetividade, contudo, foi ineficaz frente as cepas de *Candida* (Pinelli et al., 2013); uma solução a 8% foi semelhante ao hipoclorito de sódio a 0,10% na redução da estomatite, mas foi ineficiente quanto a ação antimicrobiana e remoção de biofilme de próteses totais (Arruda et al., 2017). Uma concentração de 10% da *R. communis* foi efetiva frente *S. mutans*, *B. subtilis*, ação intermediária contra as cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *C. glabrata*, e ineficaz contra *E. faecalis* (Salles et al., 2015a,b); apresentou ação moderada quanto à remoção do biofilme e à redução do número de microrganismos presentes no biofilme de próteses totais e efetividade na remissão da candidíase (Badaró et al., 2017). Em um estudo piloto, Badaró (2017) encontrou que a concentração inibitória mínima da solução de *R. communis* para *C. albicans* e *C. glabrata* foi de 6,25% e, para *S. mutans*, foi de 0,39%, no entanto, os nossos resultados diferem desses achados, uma vez que, nesta concentração, a solução teve efeito moderado contra as cepas de *C. glabrata* e não teve ação antimicrobiana frente a *C. albicans* e *S. mutans*. Sendo assim, é possível inferir que a concentração parece ser o fator determinante para a efetividade desta solução como higienizador de prótese total.

É importante enfatizar que o mecanismo de ação do ricinoleato de sódio, principal componente do óleo de rícino ainda não é totalmente conhecida. Mordente et al. (1982) relataram que a ação antimicrobiana está relacionada à uma queda significativa da produção de ácido no biofilme, contudo, não há relatos in vivo que confirmem essa hipótese. Sua ação antimicrobiana pode estar relacionada à capacidade de quebra de moléculas de açúcar das paredes celulares (Pisani et al., 2010), bem como pela inativação de ribossomos, prejudicando a síntese proteica e, conseqüentemente, promovendo morte celular (Masseti et al., 2010).

Quanto aos efeitos nas propriedades da resina acrílica, a solução de *R. communis* causou a maior alteração de cor, sendo classificada, porém, como “leve”, segundo NBS. A solução provocou a maior alteração na dureza e diminuiu a resistência à flexão, estando, porém, dentro dos limites aceitáveis clinicamente, segundo a Especificação N°12 da ANSI/ADA (ISO 1567). Provocou a maior alteração na rugosidade, sem, no entanto, significância clínica, de acordo com Bollen et al. (1997); causou alteração moderada na morfologia de superfície em análise qualitativa.

Há poucos relatos na literatura sobre os efeitos adversos da mamona nas propriedades da resina acrílica, e os mesmos divergem entre si. Estudos mostraram que na concentração de 10%, houve alterações na rugosidade (Badaró et al., 2016), cor, dureza, sorção e solubilidade, resistência à flexão, rugosidade e resistência ao impacto (Bueno, 2016). Uma concentração de 8% dessa solução acarretou alterações de cor, consideradas clinicamente aceitáveis, e não houve alteração as propriedades de rugosidade de superfície e resistência a flexão (Arruda 2014); Pisani et al., (2010) encontraram que a solução de *Ricinus communis* a 2% causou alteração de cor, diminuição da dureza, alteração da rugosidade e diminuição da resistência a flexão; outras alterações foram descritas na literatura com essa concentração, como aumento da dureza knoop e da rugosidade de superfície, bem como alteração de cor (Pisani et al., 2012). Alterações de cor significativa, diminuição da dureza, bem como dos valores de solubilidade, resistência à flexão, rugosidade e resistência ao impacto, e aumento da sorção foram descritas por Bueno (2016), embora tenham sido todas clinicamente aceitáveis.

Em relação ao peróxido alcalino Efferdent, os resultados em relação a ação antimicrobiana mostraram efetividade frente a *Streptococcus mutans*, reduzindo significativamente o número de UFC do micro-organismo, e ineficácia para *Candida albicans* e *Candida glabrata*. A literatura mostra uma grande variedade de resultados em relação a ação antimicrobiana dos peróxidos alcalinos frente cepas de *Candida*, apresentando relatos de efetividade na redução do número de *C. albicans* e *C. glabrata* (Vieira et al., 2010; Iseri et al., 2011), de ação moderada (Coimbra et al., 2016) e de ineficácia (Gornitsky et al., 2002; Ferreira et al., 2009; Lucena-Ferreira et al., 2014). A literatura também mostrou que o peróxido foi eficaz na remoção do biofilme das cepas (Gornitsky et al., 2002; Vieira et al., 2010; Iseri et al., 2011). Essas diferenças, podem estar relacionadas às diferentes metodologias empregadas, tais como método de coleta do biofilme, seleção do micro-organismo e tipo de biofilme avaliado (*in vitro* ou *in vivo*) (Nikawa et al., 1999).

A efetividade do peróxido Efferdent é associada à presença de EDTA tetrassódio na composição, o qual apresenta atividade antimicrobiana contra espécies Gram-negativas e Gram-positivas, bem como leveduras (Finnegan; Percival, 2015). O EDTA age causando danos estruturais à membrana celular, o que facilita a ação de outros agentes antimicrobianos (Nikaido, 2003). No entanto, este higienizador não foi efetivo contra as cepas de *Candida*.

Em relação aos efeitos sobre a resina acrílica, não houve alteração de cor significativa, sendo classificada como “leve”, segundo NBS; não provocou alteração da dureza, com menores

alterações da rugosidade; maior alteração da superfície morfológica, com os maiores valores de resistência à flexão, estando todos os valores, porém, dentro dos limites preconizados pela Especificação N°12 da ANSI/ADA (ISO 1567) e de acordo com Bollen et al. (1997).

A literatura é escassa em relação aos efeitos do peróxido Efferdent sobre as propriedades da resina acrílica, sendo relatada apenas por Paranhos et al., (2008) de forma que não foram encontradas diferenças estatísticas para alteração de cor e resistência à flexão. Desta maneira, nossos achados são importantes para complementar tal informação. Há relatos da alteração nas propriedades quando o uso de outros peróxidos como o Corega Tabs nas propriedades de cor, rugosidade e resistência a flexão (Peracini et al., 2010; Paranhos et al., 2013), rugosidade (Arici et al., 2013); Fittydent na alteração de cor (Amin et al., 2014); Steradent na alteração de cor (Hong et al, 2009) e Bony Plus nas propriedades de cor e rugosidade (Peracini et al., 2010), sem significância clínica.

Este estudo teve como limitação a avaliação dos micro-organismos individualmente, sendo importante, em estudos futuros, a avaliação, *in vitro*, da ação antimicrobiana destas soluções frente a biofilme misto, para a obtenção de dados quanto à interação microbiana. Estudos clínicos também se fazem necessários, para avaliar a remoção do biofilme de próteses totais, bem como a ação antimicrobiana nesta condição. Outras concentrações da solução de *Ricinus communis* devem ser estudadas, afim de se obter uma solução efetiva, visto que os resultados apresentados na literatura são inconclusivos. Há necessidade de simular o período de imersão “overnight”, uma vez que consiste em protocolo de imersão rotineiramente preconizado.

6. Conclusão

Com base nas condições experimentais do presente estudo e de acordo com a metodologia empregada, foi possível concluir que:

a) quanto a ação antimicrobiana:

A solução de Hipoclorito de Sódio a 0,20% foi a mais efetiva, uma vez que apresentou ação antimicrobiana frente aos três micro-organismos avaliados;

As soluções de *Ricinus communis* 6,25% e o Peróxido Efferdent tiveram ação moderada frente a *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*, respectivamente.

b) quanto à análise das propriedades da resina acrílica, nenhuma das soluções causou alteração clinicamente significante nas propriedades avaliadas.

Referências

Amin F, Iqbal S, Azizuddin S, Afridi FI. Effect of denture cleansers on the color stability of heat cure acrylic resin. *J Coll Physicians Surg Pakistan*. 2014;24(11):787–90.

Andrade IM, Andrade KM, Pisani MX, Silva-Lovato CH, de Souza RF, Paranhos Hde F. Trial of an experimental castor oil solution for cleaning dentures. *Braz Dent J*. 2014 Jan-Feb;25(1):43-7.

Arici N, Ural C. The Effects of a Denture Cleanser on the Surface Roughness of Heat-Cured and Cold-Cured Acrylic Resins. 2013;97(January):92–7.

Axe AS, Varghese R, Bosma M, Kitson N, Bradshaw DJ. Dental health professional recommendation and consumer habits in denture cleansing. *J Prosthet Dent [Internet]*. Ed Council for the J of Prost Dentistry; 2016;115(2):183–8.

Arruda CNF. Avaliação do hipoclorito de sódio e solução de mamona (*ricinus communis*) quanto à eficácia do controle do biofilme de próteses totais e efeitos adversos sobre a resina acrílica termicamente ativada [Dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2014.

Arruda CNF de, Salles MM, Badaró MM, de Cássia Oliveira V, Macedo AP, Silva-Lovato CH, et al. Effect of sodium hypochlorite and *Ricinus communis* solutions on control of denture biofilm: A randomized crossover clinical trial. *J Prosthet Dent*. Editorial Council for the J of Prosthet Dentistry; 2017;117(6):729–34.

Badaró MM. Avaliação clínica e laboratorial do efeito de soluções de Hipoclorito de sódio, Cloramina T e *Ricinus communis* sobre espécies de *Candida* identificadas no biofilme de próteses totais e palato de indivíduos desdentados totais. Ribeirão Preto, 2017. 153p. [Tese]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Badaró MM, Salles MM, Leite VMF, Arruda CNF de, Oliveira V de C, Nascimento C do. Clinical trial for evaluation of *Ricinus communis* and sodium hypochlorite as denture cleanser. *J Appl Oral Sci* 2017;25(3):324–34.

Bueno, FL. Avaliação dos efeitos adversos de soluções desinfetantes nas propriedades físicas e mecânicas de materiais para confecção de próteses totais. Ribeirão Preto, 2016. 125p. [Dissertação]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

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;13:258-69.

Boscato N, Radavelli A, Faccio D, Loguercio AD. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of a soft denture-lining material. *Gerodontol*. 2009 Sep;26(3):210-3.

Catão CDS, Ramos INC, Silva Neto JM, Duarte SMO, Batista AUD, Dias AHM. Chemical substance efficiency in the biofilm removing in complete denture. *Rev Odontol UNESP*. 2007;36(1):53-60.

Coimbra FCT, Salles MM, Oliveira VC, Macedo AP, Silva-Lovato CH, Pagnano VO, Paranhos EFO. Antimicrobial efficacy of complete denture cleansers. *Am J Dent* 2016;29:149-153.

Cole EC, Robinson R. Test methodology for evaluation of germicides. In: Ascenzi JM. *Handbook of disinfectants and antiseptics*. New York: Marcel Dekker Inc. 1996; 1-13.

Coulthwaite L, Verran J. Potential pathogenic aspects of denture plaque. *British J Of Biomed Sci*. 2007;64(4):180-9.

Council on Dental Materials I aE. Denture cleansers. *J Am Dent Assoc*. 1983 Jan;106(1):77-9.

Craig RG, Powers JM. *Materiais Dentários Restauradores*. 11^a ed. São Paulo: Santos; 2004. 704p.

Cruz PC, Andrade IM, Peracini A, Souza-Gugelmin MC, Silva-Lovato CH, de Souza RF, et al. The effectiveness of chemical denture cleansers and ultrasonic device in biofilm removal from complete dentures. *J Of Applied Oral Science: revista FOB*. 2011 Nov-Dec;19(6):668-73.

Davi LR, Peracini A, Ribeiro Nde Q, Soares RB, da Silva CH, Paranhos Hde F, et al. Effect of the physical properties of acrylic resin of overnight immersion in sodium hypochlorite solution. *Gerodontology*. 2010 Dec;27(4):297-302.

Dhamande MM, Pakhan AJ, Thombare RU, Ghodpage SL. Evaluation of efficacy of commercial denture cleansing agents to reduce the fungal biofilm activity from heat polymerized denture acrylic resin: An in vitro study. *Contemp Clin Dentistry*. 2012 Apr;3(2):168-72.

Felton D, Cooper L, Duquum I, Minsley G, Guckes A, Haug S, et al. Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Of Prosthodontics: official journal of the American College of Prosthodontists*. 2011 Feb;20 Suppl 1:S1-S12.

Fernandes FSF, Pereira-Cenci T, da Silva WJ, Filho AP, Straioto FG, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on *Candida* spp. biofilm formed on polyamide and polymethyl methacrylate resins. *The J of Prost Dentistry*. 2011 Jan;105(1):51-8.

Ferreira MA, Pereira-Cenci T, Rodrigues de Vasconcelos LM, Rodrigues-Garcia RC, Del Bel Cury AA. Efficacy of denture cleansers on denture liners contaminated with *Candida* species. *Clin Oral Investigations*. 2009 Jun;13(2):237-42.

Finnegan, S. Percival, SL. EDTA: Na antimicrobial and antibiofilm agente for use in wound care. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2015; 4:415-421.

Gendreau L, Loewy ZG. Epidemiology and Etiology of Denture Stomatitis. *J Prosthodont*. 2011;20(4):251-60.

Gornitsky M, Paradis II, Landaverde G, Malo AM, Velly AM. A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long-term care institutions. *Journal*. 2002 Jan;68(1):39-45.

Hong G, Murata H, Li Y, Sadamori S, Hamada T. Influence of denture cleansers on the color stability of three types of denture base acrylic resin. *J Prosthet Dent*. 2009 Mar;101(3):205-13.

Iseri U, Uludamar A, Ozman YK. Effectiveness of diferente cleaning agentes on the adherence of *Candida albicans* to acrylic denture base resin. *Gerodontol*. 2011; 28(4): 271-276.

Khan MA, Dhaded S, Shalini BN. Commercial and plant extract denture cleansers in prevention of candida albicans growth on soft denture reliner: In vitro study. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(2):ZC42-ZC45.

Kulak Y, Arikan A, Albak S, Okar I, Kazazoglu E. Scanning electron microscopic examination of different cleaners: surface contaminant removal from dentures. *J Oral Rehabil*. 1997 Mar;24(3):209-15.

Li L, Finnegan MB, Özkan S, Kim Y, Lillehoj PB, Ho CM, et al. In vitro study of biofilm formation and effectiveness of antimicrobial treatment on various dental material surfaces. *Mol Oral Microbiol*. 2010;25(6):384–90.

Liberman R, Combe EC, Piddock V, Pawson C, Watts DC. Development and assessment of an objective method of colour change measurement for acrylic denture base resins. *J Oral Rehabil*. 1995 Jun;22(6):445-9.

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 May;33(5):356-62.

Lopes S, Costa AN, Pires DP, Sillanlörva S .Biofim formation methods. In: Pereira MO, Henriques M, Cerca N, Azeredo J. *Clinical Biofilms: Current concepts and advanced techniques*. Centre of Biological Engineering, 2014. p.95-127.

Lucena-Ferreira SC, Ricomini-Filho AP, Silva WJ, Cury JA, Cury AA. Influence of daily immersion in denture cleanser on multispecies biofilm. *Clin Oral Investig*. 2014 Dec;18(9):2179-85.

Malheiros-Segundo AL, Pisani MX, Nascimento C, Souza RF, Paranhos HdeF, Silva-Lovato CH. Clinical trial of na experimental cleaning solution: antibiofilm effect and integrity of a silicone-based denture liner. *J Contemp Dent Pract* 2014;15:534-42.

Marra J, Paleari AG, Rodriguez LS, Leite ARP, Pero AC, Compagnoni MA. Effect of an acrylic resin combined with an antimicrobial polymer on biofilm formation. *J Appl Oral Sci*. 2012;20(6):643-8.

McNeme SJ, Von Gonten AS, Woolsey GD. Effects of laboratory disinfecting agents on color stability of denture acrylic resins. *The J Of Prosthet Dentist*. 1991 Jul;66(1):132-6.

Messeti M A; dos Santos AM; de Angelis DF; Chierice GO; Claro Neto S. Estudo do Derivado do Óleo de *Ricinus communis* L. (mamona) como Agente Biocida e Redutor da Viscosidade Produzida por *Leuconostoc mesenteroides* em Indústrias Sucroalcooleiras. *Arq Inst Biol*. 2010; 77(2):301-8.

Montagner H, Montagner F, Braun KO, Peres PE, Gomes BP. In vitro antifungal action of different substances over microwaved-cured acrylic resins. *J Of Appl Oral Sci: revista FOB*. 2009 Sep-Oct;17(5):432-5.

Mordente JJ, Lindstrom RE, Tanzer JM. Activity of sodium ricinoleate against in vitro plaque. *J Pharm Sci*. 1982 Dec; 71 (12):1419-21.

Nakamoto K, Tamamoto M, Hamada T. Evaluation of denture cleansers with and without enzymes against *Candida albicans*. *The J of Prosthet dentist*. 1991 Dec;66(6):792-5.

Neppelenbroek KH. Efetividade de desinfecção de próteses totais por energia de micro-ondas no tratamento da estomatite protética associada à *Candida* spp. [Tese]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia; 2005.

Neppelenbroek KH. The importance of daily removal of the denture biofilm for oral and systemic diseases prevention. *J Appl Oral Sci*. 2015;23(6):547–8.

Nikaido, H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003; 67:593-656.

Nikawa H, Hamada T, Yamashiro H, Kumagai H. A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *The Internat J of Prosthodont*. 1999 Mar-Apr;12(2):153-9.

Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Kaji A, Kurono A, Nagaoka E. Survival of microorganisms on complete dentures following ultrasonic cleaning combined with immersion in peroxide-based cleanser solution. *Gerodontol*. 2014;31(3):202–9.

Panariello BHD. Eficácia da imersão e da escovação mecânica combinada com diferentes agentes de limpeza de próteses na redução da viabilidade de biofilme multiespécies [Tese]. Araraquara: Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2013.

Paranhos HFO, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil*. 2007a Aug;34(8):606-12.

Paranhos HFO, Silva-Lovato CH, Venezian GC, Macedo LD, de Souza RF. Distribution of biofilm on internal and external surfaces of upper complete dentures: the effect of hygiene instruction. *Gerodontol*. 2007b Sep;24(3):162-8.

Paranhos H de FO, Orsi IA, Zaniquelli O, Zuccolotto MCC, Magalhães F. Effect of chemical denture cleansers on flexural resistance and color changes of microwave-polymerized acrylic resins. *Braz J Oral Sci.* 2008;7(26):1580–4.

Paranhos HFO, Davi LR, Peracini A, Soares RB, Lovato CH, Souza RF. Comparison of physical and mechanical properties of microwave-polymerized acrylic resin after disinfection in sodium hypochlorite solutions. *Braz Dent J.* 2009;20(4):331–5.

Paranhos HFO, Peracini A, Pisani MX, Oliveira VC, de Souza RF, Silva-Lovato CH. Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Braz Dental J.* 2013;24(2):152–6.

Paranhos HFO, Bezzon OL, Davi LR, Felipucci DN, Silva-Lovato CH, Pagnano VO. Effect of cleanser solutions on the color of acrylic resins associated with titanium and nickelchromium alloys. *Braz Oral Res.* 2014 Jan-Feb;28(1).

Pavarina AC, Pizzolitto AC, Machado AL, Vergani CE, Giampaolo ET. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehabil.* 2003 May;30(5):532–6.

Peracini A, Davi LR, de Queiroz Ribeiro N, de Souza RF, Lovato da Silva CH, de Freitas Oliveira Paranhos H. Effect of denture cleansers on physical properties of heat-polymerized acrylic resin. *J Prosthodont Res.* 2010a Apr;54(2):78–83.

Peracini A, Andrade IM, Paranhos Hde F, Silva CH, de Souza RF. Behaviors and hygiene habits of complete denture wearers. *Braz Dental J.* 2010;21(3):247–52.

Peyton, F. History of resins in Dentistry. *Dent. Clin. North Am*, 19, 211, 1975.

Pinelli LA, Montandon AA, Corbi SC, Moraes TA, Fais LM. *Ricinus communis* treatment of denture stomatitis in institutionalised elderly. *J Oral Rehabil.* 2013 May;40(5):375–80.

Pisani MX, Silva CHLd, Paranhos HdFO, Souza RF, Macedo AP. The Effect of Experimental Denture Cleanser Solution *Ricinus communis* on Acrylic Resin Properties. *Mat Res.* 2010;13:369–73.

Pisani, Mx; Macedo, Ap; Paranhos, Hde F; Silva, Ch. Effects of experimental *Ricinus Communis* solution for denture cleaning on the properties of acrylic resin teeth. *Braz Dental J.* 2012a;23(1): 15–21.

Polyzois GL, Yannikakis SA, Zissis AJ, Demetriou PP. Color changes of denture base materials after disinfection and sterilization immersion. *Int J Prosthodont.* 1997 Jan-Feb;10(1):83–9.

Porta SRS, De Lucena-Ferreira SC, Da Silva WJ, Del Bel Cury AA. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: A clinical study. *Gerodontology.* 2015;32(4):260–6.

Ramage G, Zalewska A, Cameron DA, Sherry L, Murray C, Finnegan MB, et al. A comparative in vitro study of two denture cleaning techniques as an effective strategy for

inhibiting *Candida albicans* biofilms on denture surfaces and reducing inflammation. *J of Prosthodont: official journal of the American College of Prosthodontists*. 2012 Oct;21(7):516-22.

Sharma D, Bhat AM, Arora H, Bhat BS. Comparison of color stability of four heat cure denture base resins in various staining solutions and denture cleansers: an in vitro study. *I J Clin Dent Res* 2015;2(3):2-8.

Salles MM, Badaró MM, Arruda CNF, Leite VMF, Silva-Lovato CH, Watanabe E, Oliveira VC, Paranhos HFO. Antimicrobial activity of denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis* - a randomized clinical study. *J of Appl Oral Sci: revista FOB*. 2015a Dec;23(6):637-42. doi: 10.1590/1678-775720150204.

Salles MM, Oliveira VC, Souza RF, Silva CH, Paranhos HFO. Antimicrobial action of sodium hypochlorite and castor oil solutions for denture cleaning - in vitro evaluation. *Braz Oral Res*. 2015b; 29:1-6.

Silva PMB Da, Acosta EJTR, Jacobina M, Pinto LDR, Porto VC. Effect of repeated immersion solution cycles on the color stability of denture tooth acrylic resins. *J Appl Oral Sci*. 2011;19(6):623–7.

Siqueira DCR. Avaliação comparativa in vivo da atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 1%, da clorexidina a 2% e do detergente derivado do óleo de mamona a 10%, utilizados como soluções irrigadoras em endodontia [Dissertação]. Bauru: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru; 2005.

Vidushi M, Dhakshaini MR, Kumar GA. Evaluation and Comparison of the Efficacy of Two Commercially available Denture Cleansers in Removing Stains from Patient's used Dentures. 2016;3(4):40–4.

Vieira AP, Senna PM, Silva WJ, Del Bel Cury AA. Long-term efficacy of denture cleansers in preventing *Candida* spp. biofilm recolonization on liner surface. *Braz Oral Res*. 2010 Jul-Sep;24(3):342-8.

Webb BC, Thomas CJ, Whittle T. A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology*. 2005 Sep;22(3):168-76.

Apêndices

Apêndice A – Número de Colônias na Placa e Contagem de UFC/mL + 1 para os microrganismos após o uso das soluções higienizadoras.

Tabela A1 – Número de Colônias e Contagem de UFC/mL + 1 de *Candida albicans*.

GRUPOS							
I – Controle		II – HS 0,2%		III – RC 6,25%		IV – EPC	
Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1
87	34801	0	1	313	125201	254	10161
144	57601	0	1	96	384001	150	60001
109	43601	0	1	166	66401	212	8481
234	93601	0	1	305	12201	85	34001
49	196001	0	1	126	5041	85	34001
73	292001	0	1	44	17601	98	39201
200	80001	0	1	106	42401	71	284001
186	74401	0	1	50	20001	48	192001
195	78001	0	1	51	20401	157	62801

Tabela A2 – Número de Colônias e Contagem de UFC/mL + 1 de *Candida glabrata*.

GRUPOS							
I – Controle		II – HS 0,2%		III – RC 6,25%		IV – EPC	
Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1
324	1296001	0	1	156	624001	130	520001
379	1516001	0	1	109	436001	128	512001
277	1108001	0	1	120	480001	174	696001
41	1640001	0	1	64	256001	324	1296001
51	2040001	0	1	43	172001	137	548001
250	1000001	0	1	284	113601	336	1344001
70	280001	0	1	87	348001	212	848001
163	652001	0	1	43	172001	45	1800001
131	524001	0	1	164	65601	223	892001

Tabela A3 – Número de Colônias e Contagem de UFC/mL + 1 de *Streptococcus mutans*.

GRUPOS							
I – Controle		II – HS 0,2%		III – RC 6,25%		IV - EPC	
Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1	Nº de colônias	UFC/mL+1
460	18400001	0	1	57	22800001	155	62001
207	82800001	0	1	307	122800001	118	472001
88	35200001	0	1	68	27200001	163	65201
313	125200001	0	1	260	104000001	37	148001
320	128000001	0	1	511	204400001	36	14401
290	11600001	0	1	204	81600001	254	1016001
307	122800001	0	1	304	121600001	9	3601
303	121200001	0	1	181	72400001	10	4001
195	78000001	0	1	522	208800001	101	40401

Apêndices B – Efeitos sobre as propriedades da resina acrílica.

Tabela B1 – Análise de Cor. Valores de “L”, “a” e “b” antes das imersões.

Corpos de Prova	GRUPOS											
	I (Controle)			II (RC 6,25%)			III (HS 0,20%)			IV (EPC)		
	L	a	B	L	a	B	L	A	B	L	a	b
1	53,62	24,70	14,25	51,48	25,39	13,62	50,79	25,54	13,74	51,90	22,22	12,42
2	50,53	25,90	13,69	54,80	25,34	14,91	52,24	25,63	13,99	53,38	25,89	14,14
3	53,84	24,90	13,77	53,70	25,51	14,02	52,40	25,87	13,72	54,20	25,76	11,66
4	50,61	25,84	13,70	54,03	23,70	12,66	52,52	24,87	13,34	53,26	25,68	14,04
5	53,07	24,93	13,74	54,43	23,67	12,91	53,40	25,30	13,73	54,41	25,56	14,47
6	51,90	26,07	14,06	50,43	25,69	13,61	51,04	25,82	14,25	53,82	25,77	15,22
7	50,55	26,34	13,94	53,38	25,96	14,68	52,97	25,95	15,10	52,43	26,36	14,50
8	52,86	24,91	13,58	53,40	25,36	14,25	53,48	25,38	13,81	54,12	25,09	14,34
9	52,90	25,40	14,24	53,69	25,24	14,24	51,32	24,96	13,37	52,64	25,84	14,19
10	52,83	26,43	13,82	53,44	25,14	13,79	52,84	25,47	14,09	53,32	25,46	13,91
11	53,68	25,08	13,76	53,04	24,81	13,65	50,37	26,04	13,87	50,49	26,02	14,23
12	53,16	25,82	14,16	50,40	25,90	13,72	53,31	24,74	13,72	50,62	26,27	13,93
13	53,04	25,11	13,70	53,71	24,95	13,61	50,33	25,29	13,54	52,67	24,95	13,66
14	53,13	25,17	13,83	53,44	24,81	14,28	50,46	26,06	13,86	53,08	25,38	13,62
15	53,35	24,83	13,50	53,55	25,28	14,11	53,08	25,78	13,85	50,61	25,89	13,26
16	53,60	25,30	14,14	50,16	25,54	13,42	54,35	26,55	14,97	50,98	25,03	13,53
17	53,27	25,54	14,53	50,44	26,30	13,89	53,48	25,13	14,26	52,49	26,02	14,45
18	53,34	25,57	13,86	53,74	24,32	13,63	52,27	25,28	13,73	49,79	26,14	13,50
19	52,55	25,32	13,74	53,27	24,91	13,94	53,33	25,59	14,41	52,61	26,06	14,53
20	53,38	25,59	13,86	50,81	26,03	13,82	53,88	24,77	14,00	52,40	24,66	13,55

Tabela B2 – Análise de Cor. Valores de “L”, “a” e “b” depois das imersões.

Corpos de Prova	GRUPOS											
	I (Controle)			II (RC 6,25%)			III (HS 0,20%)			IV (EPC)		
	L	a	b	L	a	b	L	A	B	L	a	B
1	52,95	24,97	14,32	50,48	25,77	14,01	50,43	25,60	13,83	50,98	26,33	14,12
2	50,01	25,55	13,74	53,36	26,05	15,23	52,08	25,31	13,93	53,23	25,58	14,18
3	53,29	24,52	14,07	52,85	26,10	14,29	52,19	25,89	14,00	52,84	26,05	14,15
4	49,66	25,63	13,64	52,79	25,84	14,17	52,16	24,75	13,76	53,00	25,76	14,06
5	52,67	24,66	13,56	52,95	24,84	13,74	52,98	25,25	13,75	53,45	26,38	14,95
6	52,61	25,70	13,88	49,51	26,25	13,89	50,88	25,94	14,65	53,63	26,18	15,45
7	52,30	24,65	13,86	53,29	26,13	14,81	53,23	25,56	14,89	52,11	26,52	14,63
8	50,33	26,31	13,26	52,67	25,63	14,36	52,84	25,29	13,84	53,82	25,51	14,66
9	53,42	24,74	14,07	52,91	25,67	14,87	50,51	25,30	13,75	52,85	25,51	13,89
10	52,29	26,42	13,74	52,58	25,65	14,02	52,61	25,23	14,31	52,61	26,07	14,11
11	53,38	24,94	13,87	52,26	25,57	14,00	50,58	25,95	14,17	50,68	26,37	14,17
12	52,80	25,58	14,29	49,32	27,05	14,22	52,71	24,60	13,79	50,25	26,60	14,34
13	52,58	25,11	13,59	52,90	25,20	13,84	50,14	25,04	13,39	52,62	25,25	13,90
14	52,65	24,77	13,96	52,78	25,49	14,66	50,34	26,32	14,16	52,55	25,81	13,79
15	53,04	24,60	13,45	52,93	25,94	14,50	52,44	25,73	14,22	49,62	26,48	13,75
16	52,85	24,74	13,54	49,63	26,27	13,83	54,22	26,15	14,97	50,06	25,95	14,18
17	53,02	24,82	14,04	49,79	26,82	14,06	53,11	24,28	14,40	52,42	26,10	14,62
18	52,82	25,50	14,07	52,85	24,83	13,92	52,04	25,39	13,50	49,29	26,66	13,92
19	52,33	25,28	13,28	49,79	26,78	14,11	52,92	25,55	14,46	51,99	26,59	14,65
20	52,84	25,29	14,21	52,75	25,21	13,94	53,02	24,92	13,85	52,00	24,97	13,73

Apêndice C – Dureza Knoop antes e após as imersões.

Tabela C1 – Leituras da Dureza Knoop antes da imersão do Grupo I.

Corpos de Prova	GRUPO I – (Controle)							
1	17,8	17,8	17,8	16,6	17,1	17,5	17,1	17,1
2	16,7	19,3	19,3	19,1	18,1	18,2	19,2	19,2
3	19,0	18,5	18,6	18,6	18,2	18,6	19,0	17,6
4	17,3	18,1	18,6	17,8	18,0	18,8	18,8	17,9
5	18,9	18,6	18,5	18,8	17,6	18,8	19,2	18,9
6	18,9	19,8	18,8	20,0	18,1	18,7	18,3	19,5
7	19,8	17,9	17,5	19,2	18,9	19,3	18,6	18,7
8	19,0	18,8	18,2	19,1	20,6	20,3	20,0	20,0
9	20,7	20,7	23,3	21,3	20,3	24,9	21,0	25,0
10	19,4	18,4	20,4	22,3	20,2	24,5	23,9	24,4
11	16,1	16,7	18,6	17,8	17,8	18,1	17,0	17,9
12	17,5	16,7	18,7	17,7	17,7	17,7	17,8	18,8
13	17,7	16,6	17,6	17,3	17,4	17,8	19,5	18,8
14	20,0	18,5	18,6	19,1	18,2	18,7	18,4	18,5
15	18,2	18,7	19,0	18,2	18,2	18,6	18,2	17,3
16	19,7	20,5	19,1	18,5	18,9	18,7	17,7	19,3
17	19,2	18,0	19,6	19,6	19,6	20,0	18,4	18,0
18	19,2	20,3	19,2	20,0	18,1	18,9	18,9	21,8
19	17,7	17,4	19,3	18,9	17,8	18,4	17,4	17,3
20	19,4	18,7	18,4	18,4	19,3	20,3	18,9	20,0

Tabela C2 – Leituras da Dureza Knoop após a imersão do Grupo I.

Corpos de Prova	GRUPO I – (Controle)							
1	19,8	19,2	19,6	19,9	19,1	19,4	18,8	19,5
2	18,8	17,8	20,2	18,6	19,9	20,6	23,7	18,8
3	19,5	21,0	20,1	18,6	19,0	18,2	19,7	20,5
4	20,3	19,4	19,8	20,8	19,0	18,6	20,8	21,6
5	19,4	19,2	19,8	19,0	17,8	18,9	16,7	17,9
6	19,2	23,2	20,3	17,4	19,1	16,7	19,0	20,4
7	17,2	18,3	19,6	17,8	18,4	20,1	19,4	19,0
8	17,5	19,0	17,1	17,5	19,4	18,2	17,0	17,6
9	16,2	17,0	16,2	19,0	18,0	16,3	16,7	16,9
10	16,6	15,9	18,7	19,6	19,4	18,7	17,2	17,2
11	17,0	16,7	17,4	16,9	16,3	17,1	17,7	18,6
12	18,1	16,0	17,6	18,7	16,1	17,6	18,3	18,7
13	19,1	19,7	20,5	17,6	15,6	14,7	19,9	18,8
14	20,1	17,7	20,2	17,9	16,8	16,3	17,1	17,8
15	21,3	18,0	18,4	16,2	16,4	18,7	18,6	19,7
16	15,9	20,7	19,8	20,6	20,7	18,4	21,9	18,9
17	21,0	18,5	17,4	16,3	16,9	17,5	17,6	17,7
18	17,1	18,6	20,6	18,2	20,3	20,4	20,6	17,8
19	15,8	20,7	18,8	17,4	17,2	18,0	20,0	18,0
20	19,6	20,2	17,8	20,1	20,6	19,2	16,6	17,9

Tabela C3 – Leituras da Dureza Knoop antes da imersão do Grupo II.

Corpos de Prova	GRUPO II – (RC 6,25%)							
1	19,1	19,3	19,9	19,9	21,6	20,1	18,1	19,5
2	22,1	19,6	18,8	19,6	19,6	18,3	18,4	19,0
3	19,0	19,1	20,8	17,0	18,3	18,3	18,6	20,0
4	20,8	19,7	19,6	20,4	18,6	20,3	19,5	18,5
5	18,0	18,2	17,8	20,1	18,5	18,2	17,3	19,0
6	17,9	17,4	18,4	18,2	18,9	19,0	20,1	19,9
7	18,3	17,8	18,2	17,8	17,6	17,9	18,5	19,6
8	18,9	20,3	18,3	18,5	18,4	19,7	17,2	18,4
9	17,9	18,7	17,5	18,5	19,8	19,3	19,1	18,8
10	18,0	19,0	18,2	18,7	19,3	18,7	18,7	19,7
11	18,0	19,7	17,6	18,1	18,3	19,3	17,8	18,4
12	19,7	17,4	20,6	20,4	19,7	19,7	19,9	19,3
13	18,8	19,0	18,3	18,8	18,8	21,0	18,4	17,5
14	17,5	19,7	18,2	17,8	17,7	17,7	18,7	19,2
15	19,4	19,1	19,8	20,2	20,7	20,7	18,4	19,7
16	19,3	21,5	23,5	21,0	20,2	21,1	20,9	20,6
17	22,5	20,0	19,2	19,2	20,4	21,3	19,4	18,6
18	19,4	20,2	18,2	18,6	19,6	20,4	20,4	19,5
19	22,5	22,3	23,2	21,3	19,0	19,8	19,7	21,7
20	17,6	17,1	19,2	15,4	17,3	18,0	18,3	19,5

Tabela C4 – Leituras da Dureza Knoop após a imersão do Grupo II.

Corpos de Prova	GRUPO II – (RC 6,25%)							
1	23,0	20,7	21,0	22,0	23,7	24,2	22,5	23,8
2	26,4	22,9	22,4	21,6	20,1	21,2	23,3	19,7
3	22,2	21,5	23,6	22,5	26,0	24,3	25,4	23,6
4	20,6	21,9	20,7	20,8	19,1	22,7	20,5	21,4
5	22,9	24,7	26,7	24,6	24,2	27,6	24,3	25,2
6	22,4	21,8	21,3	22,2	21,5	23,8	23,3	23,7
7	23,3	22,7	22,1	21,8	22,4	22,0	24,6	24,2
8	24,2	23,8	23,4	24,4	25,1	24,5	27,1	24,4
9	21,1	19,2	20,5	21,9	20,4	20,4	21,5	21,1
10	19,9	19,5	19,1	18,0	19,2	20,3	19,9	20,8
11	22,6	21,7	20,8	18,8	19,4	23,8	23,0	21,8
12	21,8	21,3	24,4	21,0	21,0	22,6	22,6	21,7
13	21,8	23,2	24,4	23,9	21,9	22,8	18,7	19,3
14	17,3	17,1	16,3	18,8	21,5	22,3	21,9	20,1
15	20,0	21,4	22,7	21,6	24,3	25,6	25,1	22,8
16	22,7	23,2	21,0	22,2	23,1	22,4	20,0	20,6
17	21,6	24,5	23,8	22,6	23,3	22,7	22,4	19,0
18	20,3	20,2	19,2	21,0	20,5	22,3	21,8	20,5
19	22,0	22,0	20,9	21,3	17,8	17,8	22,4	24,3
20	21,8	21,8	26,6	21,5	20,9	22,9	23,6	24,9

Tabela C5 – Leituras da Dureza Knoop antes da imersão do Grupo III.

Corpos de Prova	GRUPO III – (HS 0,20%)							
1	20,0	19,7	18,3	18,5	19,4	18,5	19,6	18,3
2	17,7	17,3	18,4	19,0	18,6	19,3	19,1	18,6
3	19,9	19,7	21,3	20,4	18,0	18,7	18,7	20,5
4	19,7	19,0	19,0	18,3	17,5	20,2	24,6	19,6
5	20,8	21,3	18,3	18,5	19,1	18,2	18,9	18,1
6	18,9	18,9	18,2	19,7	18,9	20,1	19,7	19,7
7	19,6	17,9	18,4	19,1	18,5	19,7	19,6	19,0
8	19,5	17,3	19,0	19,5	18,5	18,5	18,7	18,8
9	19,2	18,4	20,2	18,0	19,5	19,5	18,6	18,3
10	18,3	19,3	19,3	19,3	19,3	18,7	19,4	19,4
11	19,2	18,5	18,1	18,2	19,1	18,2	19,3	18,8
12	18,8	18,3	17,6	18,1	18,0	17,6	18,4	18,0
13	18,2	17,8	17,7	18,7	18,1	18,5	18,1	19,0
14	18,1	18,1	18,7	19,1	18,3	18,3	18,9	20,0
15	18,0	17,9	17,4	17,1	18,1	19,2	18,4	18,3
16	19,5	18,4	17,9	18,7	18,7	18,1	18,1	18,1
17	17,4	17,8	18,9	17,9	19,0	19,0	19,5	18,6
18	19,2	18,7	19,1	18,2	19,7	20,1	20,1	19,6
19	20,0	18,8	19,4	19,2	18,3	18,5	18,0	18,3
20	18,0	17,7	18,4	19,0	18,1	21,1	18,5	18,7

Tabela C6 – Leituras da Dureza Knoop após a imersão do Grupo III.

Corpos de Prova	GRUPO III – (HS 0,20%)							
1	20,7	20,7	18,2	19,0	19,8	22,2	22,9	21,7
2	16,9	18,6	17,9	19,6	15,9	15,6	17,4	16,8
3	18,1	19,7	20,3	21,6	23,8	23,8	19,3	18,0
4	19,9	19,6	21,9	20,1	18,7	18,3	19,2	19,9
5	22,5	21,9	21,3	22,7	17,6	19,4	18,1	21,8
6	18,5	18,5	19,9	18,0	18,4	18,2	18,7	18,3
7	17,7	18,9	20,0	18,8	19,4	18,7	18,7	17,8
8	15,9	17,2	18,1	19,1	18,0	17,7	18,6	19,6
9	17,6	18,6	18,8	18,2	19,1	20,1	22,0	17,7
10	19,0	19,8	18,2	17,2	17,3	18,5	17,4	17,9
11	18,8	19,2	17,6	18,2	17,7	17,7	17,6	17,6
12	19,1	17,8	19,4	19,4	20,5	16,0	21,0	20,6
13	20,0	18,3	17,4	20,6	18,0	20,1	20,1	19,2
14	18,5	21,2	19,3	18,3	19,3	18,8	18,0	18,1
15	18,7	18,7	20,1	19,6	16,7	16,6	18,2	17,6
16	19,4	18,6	18,4	18,1	17,3	18,1	18,8	19,6
17	18,1	18,6	18,2	18,1	21,0	21,0	20,3	19,0
18	19,0	20,9	17,7	19,1	19,0	18,5	18,0	19,4
19	18,9	17,7	18,5	19,3	18,3	18,5	18,2	19,1
20	18,5	19,2	18,1	19,1	19,8	19,8	19,8	19,9

Tabela C7 – Leituras da Dureza Knoop antes da imersão do Grupo IV.

Corpos de Prova	GRUPO IV – (EPC)							
1	13,9	15,1	18,0	18,0	17,2	17,2	17,2	17,2
2	16,4	16,4	16,4	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3	17,3
4	17,3	18,7	18,7	17,6	17,6	17,6	18,5	18,5
5	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	18,9	20,3	20,3
6	19,7	19,7	18,6	18,6	20,4	20,4	17,7	19,9
7	18,6	18,6	21,1	22,1	20,1	20,1	22,0	19,7
8	20,7	19,3	21,7	21,7	18,7	19,7	20,8	19,3
9	18,2	18,2	18,2	17,0	15,9	15,9	16,6	16,6
10	19,8	18,7	20,6	20,6	18,9	18,7	18,7	23,3
11	22,0	19,7	18,4	18,9	19,3	21,2	19,4	21,4
12	18,6	20,5	18,1	18,4	18,4	19,5	19,5	17,9
13	20,5	19,7	19,1	20,1	19,6	18,7	18,7	18,4
14	17,5	18,7	17,8	17,8	18,6	18,7	18,7	19,8
15	18,2	17,4	16,4	18,4	18,8	17,9	18,6	19,5
16	19,4	19,2	18,8	18,8	18,7	18,7	17,4	17,4
17	18,6	18,8	19,3	18,4	19,4	17,2	18,4	18,7
18	22,2	21,3	18,0	18,0	19,4	18,5	20,0	20,0
19	17,3	18,5	19,2	18,0	17,7	21,4	21,0	20,9
20	20,5	19,2	18,6	18,5	19,3	18,6	19,3	19,3

Tabela C8 – Leituras da Dureza Knoop após a imersão do Grupo IV.

Corpos de Prova	GRUPO IV – (EPC)							
1	20,0	20,3	20,8	20,4	20,5	21,7	23,3	20,8
2	20,5	18,9	19,2	19,4	18,8	19,2	18,3	19,9
3	17,9	19,1	20,1	21,6	25,3	19,6	16,8	23,4
4	20,6	23,6	19,5	19,5	18,5	20,2	19,4	20,3
5	21,4	17,8	19,9	20,9	19,9	19,0	20,0	18,8
6	18,8	19,0	19,2	18,8	21,5	21,9	18,7	19,6
7	20,9	18,5	19,4	20,2	20,1	20,0	20,0	19,2
8	18,8	18,3	18,4	19,6	18,9	18,4	18,6	19,2
9	20,4	17,0	19,2	18,0	16,9	17,3	19,1	18,7
10	18,8	19,5	18,9	19,2	18,1	19,2	18,5	17,4
11	18,2	17,8	18,5	19,2	19,2	18,0	19,5	17,7
12	18,6	19,4	19,2	19,2	20,9	18,2	18,1	18,9
13	19,6	18,7	15,6	18,6	19,0	18,6	18,1	18,8
14	19,9	20,0	21,8	21,5	19,1	18,2	20,7	22,3
15	17,6	18,5	19,0	18,3	18,2	20,2	18,5	17,7
16	19,8	17,9	18,1	19,3	17,7	19,1	17,8	17,3
17	18,2	20,3	18,9	18,6	20,1	20,2	21,7	19,8
18	20,1	19,9	18,9	17,5	19,2	18,5	18,1	19,1
19	18,6	18,4	18,3	18,2	18,5	19,6	18,0	20,0
20	21,3	19,8	20,2	20,2	19,4	17,8	17,8	20,9

Apêndice D – Rugosidade de Superfície (μm) antes e após as imersões.

Tabela D1 – Rugosidade de Superfície (μm) antes e após as imersões do Grupo I.

Corpos de Prova	GRUPO I – (Controle)					
	Leitura inicial			Leitura final		
1	0,04	0,02	0,03	0,08	0,03	0,03
2	0,10	0,06	0,03	0,10	0,10	0,06
3	0,06	0,06	0,10	0,04	0,05	0,07
4	0,04	0,04	0,08	0,05	0,04	0,07
5	0,05	0,09	0,06	0,07	0,06	0,09
6	0,03	0,10	0,03	0,04	0,05	0,07
7	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04
8	0,12	0,11	0,07	0,13	0,12	0,07
9	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04
10	0,06	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06
11	0,06	0,06	0,05	0,07	0,10	0,07
12	0,10	0,18	0,11	0,10	0,19	0,11
13	0,16	0,09	0,18	0,04	0,06	0,04
14	0,06	0,05	0,08	0,04	0,04	0,06
15	0,04	0,07	0,05	0,06	0,04	0,06
16	0,14	0,05	0,12	0,12	0,08	0,08
17	0,17	0,05	0,09	0,12	0,15	0,03
18	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04
19	0,14	0,08	0,07	0,03	0,13	0,07
20	0,18	0,11	0,07	0,07	0,19	0,12

Tabela D2 – Rugosidade de Superfície (μm) antes e após as imersões do Grupo II.

GRUPO II – (RC 6,25%)						
Corpos	Leitura inicial			Leitura final		
de Prova						
1	0,04	0,06	0,10	0,06	0,09	0,11
2	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05
3	0,06	0,08	0,11	0,07	0,08	0,16
4	0,04	0,08	0,06	0,14	0,12	0,10
5	0,04	0,04	0,06	0,05	0,04	0,04
6	0,05	0,06	0,09	0,07	0,07	0,07
7	0,03	0,04	0,03	0,14	0,04	0,07
8	0,10	0,13	0,10	0,32	0,18	0,24
9	0,06	0,06	0,06	0,10	0,12	0,09
10	0,12	0,07	0,04	0,24	0,20	0,27
11	0,04	0,06	0,06	0,07	0,10	0,09
12	0,04	0,05	0,08	0,07	0,07	0,06
13	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,09
14	0,03	0,03	0,03	0,03	0,06	0,03
15	0,10	0,05	0,09	0,07	0,09	0,08
16	0,02	0,03	0,02	0,09	0,08	0,10
17	0,07	0,09	0,09	0,16	0,08	0,09
18	0,09	0,06	0,07	0,07	0,08	0,05
19	0,04	0,04	0,03	0,07	0,04	0,04
20	0,07	0,06	0,05	0,07	0,10	0,07

Tabela D3 – Rugosidade de Superfície (μm) antes e após as imersões do Grupo III.

Corpos de Prova	GRUPO III – (HS 0,20%)					
	Leitura inicial			Leitura final		
1	0,05	0,10	0,04	0,04	0,17	0,04
2	0,04	0,03	0,07	0,11	0,11	0,16
3	0,07	0,04	0,04	0,05	0,06	0,06
4	0,09	0,18	0,08	0,08	0,09	0,14
5	0,07	0,04	0,12	0,1	0,05	0,05
6	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,14
7	0,05	0,04	0,06	0,04	0,04	0,04
8	0,05	0,04	0,04	0,12	0,05	0,05
9	0,07	0,06	0,10	0,35	0,06	0,07
10	0,07	0,06	0,08	0,07	0,08	0,06
11	0,03	0,03	0,07	0,05	0,05	0,04
12	0,11	0,07	0,10	0,09	0,16	0,10
13	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07
14	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05
15	0,03	0,04	0,04	0,06	0,04	0,05
16	0,07	0,07	0,06	0,12	0,13	0,05
17	0,08	0,06	0,07	0,18	0,07	0,05
18	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,06
19	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04
20	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04

Tabela D4 – Rugosidade de Superfície (μm) antes e após as imersões do Grupo IV.

Corpos de Prova	GRUPO IV – (EPC)					
	Leitura inicial			Leitura final		
1	0,05	0,05	0,10	0,07	0,05	0,03
2	0,06	0,06	0,07	0,05	0,04	0,04
3	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04
4	0,06	0,06	0,04	0,05	0,05	0,06
5	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07
6	0,06	0,05	0,08	0,05	0,06	0,06
7	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03
8	0,06	0,07	0,05	0,06	0,08	0,06
9	0,08	0,04	0,07	0,06	0,09	0,09
10	0,07	0,08	0,09	0,14	0,09	0,09
11	0,03	0,05	0,03	0,14	0,08	0,09
12	0,04	0,07	0,06	0,04	0,09	0,07
13	0,06	0,16	0,04	0,08	0,06	0,06
14	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,06
15	0,03	0,04	0,03	0,02	0,03	0,02
16	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05
17	0,07	0,08	0,07	0,08	0,09	0,10
18	0,06	0,05	0,09	0,06	0,05	0,09
19	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05
20	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05