

ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA

DEISE CAREN SOMACAL

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DE PH E DO ÁCIDO GÁSTRICO NA SUPERFÍCIE DE  
RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO.**

Porto Alegre

2018

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
CONCENTRAÇÃO EM DENTÍSTICA RESTAURADORA

DEISE CAREN SOMACAL

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DE PH E DO ÁCIDO GÁSTRICO NA SUPERFÍCIE  
DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO**

Porto Alegre

2018

DEISE CAREN SOMACAL

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DE PH E DO ÁCIDO GÁSTRICO NA SUPERFÍCIE  
DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM ODONTOLOGIA, área de concentração em Dentística Restauradora.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Spohr

Porto Alegre

2018

DEISE CAREN SOMACAL

**EFEITO DAS VARIAÇÕES DE PH E DO ÁCIDO GÁSTRICO NA SUPERFÍCIE  
DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM ODONTOLOGIA, área de concentração em Dentística Restauradora.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Maria Spohr

---

Prof. Dr. Gilberto Antônio Borges

---

Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

Porto Alegre

2018

*Dedico essa dissertação aos meus pais*  
***Claimar Somacal e Aires Maria Frá Somacal***  
*pelo apoio e amor incondicionais. Sem vocês*  
*nada faria sentido.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida maravilhosa que me proporcionou e pelas oportunidades e pessoas incríveis que colocou em meu caminho.

À Profª Drª Ana Maria Spohr, minha orientadora e exemplo de profissional, agradeço por todo auxílio, paciência e por me abrir as portas para o mundo da pesquisa. Tenho um carinho enorme por você. Obrigada!

À Profª Drª Silvia Dias de Oliveira pela contribuição metodológica, por me receber e aceitar minha ideia, sempre disposta a ajudar, assim como as alunas Marina e Brenda. Adorei trabalhar com vocês!

Aos professores da Faculdade de Odontologia, Luiz Henrique Burnett Jr, Eduardo Gonçalves Mota e Maria Martha Campos, agradeço todo o conhecimento transmitido.

Aos meus pais Claimar e Aires que nunca mediram esforços para me ver feliz, que me proporcionaram o melhor estudo dentro das possibilidades e me incentivaram a seguir o caminho do bem. Vocês são meus exemplos de amor, humildade, respeito e dedicação. Obrigada! Amo vocês!

Ao meu namorado Benhur Felipe, saiba que um pedacinho desse trabalho também é seu, pois entendeu os dias necessários ao estudo, compreendeu a ausência e mesmo assim incentivou. Ainda, me ajudou, acalmou e escutou sempre que precisei. Obrigada por tudo! Te amo!

Aos meus Dindos Adi, Domingos, Greice e Felipe e a pequena Juju. Obrigada por toda ajuda e pelo incentivo. Por estarem sempre presentes nos momentos mais importantes da minha vida. Amo vocês!

A minha amigona do peito Fernanda Manfroi, agradeço imensamente por todos os ensinamentos, conselhos e pela amizade sincera e verdadeira. Igual a nós não há!

A querida Mariá Bellan, pela amizade linda que construímos durante esses dois anos do meu mestrado, pelas conversas, dicas, ideias maravilhosas e por torcer por mim!

A Adriane Carvalho, agradeço por todas as palavras de incentivos, pelas boas conversas e risadas e pela amizade, a qual levarei para sempre comigo.

As minhas amigas e colegas do mestrado Pamella e Bianca, adorei dividir essa etapa tão importante da vida com vocês!

A querida Júlia, a IC mais dedicada de todos os tempos, obrigada pela ajuda e pelos pensamentos positivos! És um doce de pessoa e uma aluna muito dedicada. Sei que terás um futuro brilhante a sua espera.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia da PUCRS, do Laboratório de Materiais Dentários e hoje meus grandes amigos: Antônio, Neusa, Karina e Denise. Agradeço todo carinho e ajuda!

Ao professor Hélio pelas análises estatísticas desse estudo.

À CAPES pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho, assim como a 3M ESPE pela contribuição com material de estudo para essa pesquisa.

*Fazer o que você gosta é liberdade.*

*Gostar do que você faz é felicidade.*

*Frank Tyger*



## SUMÁRIO

### ARTIGO 1: EFEITO DAS VARIAÇÕES DE PH NA SUPERFÍCIE DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO .....	14
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.1 Materiais.....	17
2.2 Método.....	19
2.2.1 Obtenção das amostras para avaliação da rugosidade superficial .....	19
2.2.2 Polimento das amostras.....	19
2.2.3 Rugosidade superficial.....	20
2.2.4 Ciclos de pH.....	20
2.2.5 Escovação simulada.....	20
2.2.6 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	21
2.2.7 Obtenção das amostras para avaliação da adesão bacteriana.....	21
2.2.7.1 Esterilização das amostras.....	22
2.2.7.2 Adesão de <i>Streptococcus mutans</i> .....	22
2.2.7.3 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	23
2.3 Análise estatística.....	23
3. RESULTADOS.....	24

3.1 Rugosidade superficial.....	24
3.2 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	25
3.3 Adesão bacteriana.....	27
3.4 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
4. DISCUSSÃO.....	34
5. CONCLUSÃO.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	41

## ARTIGO 2: EFEITO DO ÁCIDO GÁSTRICO NA SUPERFÍCIE DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO

RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
1. INTRODUÇÃO .....	48
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
2.1 Materiais.....	52
2.2 Método.....	52
2.2.1 Obtenção das amostras para avaliação da rugosidade superficial.....	52
2.2.2 Polimento das amostras.....	52
2.2.3 Rugosidade superficial.....	53
2.2.4 Ácido gástrico.....	54
2.2.5 Escovação simulada.....	54
2.2.6 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	55
2.2.7 Obtenção das amostras para avaliação da adesão bacteriana.....	55
2.2.7.1 Esterilização das amostras.....	56
2.2.7.2 Adesão de <i>Streptococcus mutans</i> .....	56
2.2.7.3 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	57
2.3 Análise estatística.....	57
3. RESULTADOS.....	58
3.1 Rugosidade superficial.....	58

3.2 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	59
3.3 Adesão bacteriana .....	61
3.4 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	63
4. DISCUSSÃO.....	68
5. CONCLUSÃO.....	73
6. REFERÊNCIAS.....	74
ANEXOS.....	79

## ARTIGO 1: EFEITO DAS VARIAÇÕES DO PH NA SUPERFÍCIE DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, de forma quantitativa e qualitativa, o efeito das variações de pH na rugosidade superficial (Ra) e na adesão bacteriana (Cn) de resinas compostas de incremento único seguido de escovação simulada.

**Materiais e Métodos:** Trinta amostras de cada resina composta (5mm de largura e 4mm de altura) foram obtidas -G1(controle): Z250; G2: Filtek *Bulk-Fill* (FTK); G3: Tetric N Ceram *Bulk-Fill* (TTC); G4: Aura *Bulk-Fill* (AUR). Após 24 h, as amostras foram polidas e então alternaram por soluções DES/RE por 15 ciclos de 24 h cada a 37°C. Na sequência foram submetidas à escovação simulada. As medidas Ra e Cn foram analisadas quantitativamente em três etapas: após polimento (Ra0 e Cn0), após ciclos de pH (Ra1 e Cn1) e após escovação simulada (Ra2 e Cn2). Medições em novas amostras submetidas apenas à escovação simulada foram realizadas (Ra\* e Cn\*). Para análise dos dados de Ra foi utilizada a ANOVA de dois fatores, seguida do teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ). O teste de Kruskal-Wallis seguido de comparações múltiplas foi utilizado para análise de Cn. A topografia superficial e a adesão bacteriana foram observadas em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). **Resultados:** Z250, FTK e TTC não tiveram alteração significativa de Ra independente do tratamento realizado, com exceção da AUR que obteve Ra superior em Ra2 ( $p<0,05$ ). Em Cn, FTK diferiu das demais em Cn0 e Cn1. Em Cn2 não houve diferença entre as resinas compostas. Apenas após Cn\*, a Z250 diferiu dos outros materiais. Imagens em MEV evidenciaram formação de trincas e exposição de partículas de carga em Ra1, com desprendimento das partículas expostas. Houve formação de microcavidades em todas as resinas compostas em Ra2. Ocorreu adesão bacteriana em todas as resinas compostas independente do tratamento. Houve maior adesão bacteriana em Cn1 para Z250 e FTK. **Conclusão:** Os ciclos de pH não alteraram Ra das resinas compostas Z250, FTK, TTC e AUR. A escovação simulada após os ciclos de pH causou aumento de Ra apenas para AUR e reduziu a adesão bacteriana nas resinas compostas Z250 e FTK. Houve degradação da superfície de todas as resinas compostas, assim como adesão bacteriana.

**Palavras-chave:** resinas compostas, desmineralização do dente, remineralização dentária, escovação dentária, propriedades de superfície, aderência bacteriana.

## ABSTRACT

**Aim:** To evaluate, *in vitro*, quantitatively and qualitatively, the effect of pH variations on surface roughness (Ra) and bacterial adhesion (Cn) of *Bulk-Fill* composite resins followed by simulated toothbrushing. **Materials and Methods:** Thirty samples of each composite resin were obtained: G1 (control): Z250; G2: Filtek *Bulk-Fill* (FTK); G3: Tetric N Ceram *Bulk-Fill* (TTC); G4: Aura *Bulk-Fill* (AUR). After 24 h, the samples were polished and then alternated by DES/RE solutions for 15 cycles of 24 h each at 37°C. Then, the samples were submitted to simulated toothbrushing. The Ra and Cn measurements were quantitatively analyzed in three stages: after polishing (Ra0 and Cn0), after pH cycles (Ra1 and Cn1) and after simulated toothbrushing (Ra2 and Cn2). Measurements on new samples submitted only to simulated toothbrushing were also performed (Ra\* and Cn\*). The Ra values were submitted to two-way ANOVA, followed by the Tukey's test ( $\alpha=0.05$ ). The Kruskal-Wallis test followed by multiple comparisons was applied for Cn analysis. Surface topography and bacterial adhesion were observed by Scanning Electron Microscopy (SEM). **Results:** Z250, FTK and TTC showed no significant change in Ra regardless of the treatment performed, except for AUR which obtained superior Ra at Ra2 ( $p < 0.05$ ). In the bacterial count, FTK differed from the others in Cn0 and Cn1. In Cn2 there was no difference between the composite resins. Only after Cn\*, the Z250 differed from all other materials. SEM images showed cracking and exposure of fillers in Ra1, with detachment of the exposed fillers. Microcavities were observed in all composite resins in Ra2. Bacterial adhesion occurred in all composite resins regardless of the treatment. There was greater bacterial adhesion in Cn1 for Z250 and FTK. **Conclusion:** The pH cycles did not alter the Ra of composite resins Z250, FTK, TTC and AUR. Simulated toothbrushing after pH cycles caused Ra increase only for AUR, and reduced bacterial adhesion in Z250 and FTK composite resins. There was degradation of the surface of all composite resins, as well as bacterial adhesion.

**Key-words:** composite resins, tooth demineralization, tooth remineralization, toothbrushing, surface properties, bacterial adhesion.

## 1 INTRODUÇÃO

As resinas compostas são amplamente utilizadas em Odontologia Restauradora, não somente para reparar lesões cariosas, mas para restaurar esmalte perdido por traumas ou processos abrasivos, assim como por razões estéticas.<sup>1</sup> O uso difundido desse material associado às condições de adversidade que são expostos constantemente no meio bucal, exigem que ele seja resistente à degradação.<sup>2</sup>

As propriedades dos materiais restauradores podem ser influenciadas pelas características físicas e químicas da cavidade bucal.<sup>3</sup> O pH do biofilme bacteriano é um dos fatores que interfere nas propriedades dos materiais restauradores, tendo em vista as variações que ocorrem durante o processo de desmineralização e remineralização pelo estímulo cariogênico.<sup>4,5</sup> A constante evolução dos materiais restauradores sugere a necessidade de simular condições intrabucais, como as variações de pH, ao testar esses materiais.

Trabalhos realizados *in vitro* utilizaram os ciclos de pH para mimetizar a condição bucal, caracterizando-se pela dinâmica entre períodos de desmineralização e remineralização.<sup>6,7</sup> Essa metodologia para estudos laboratoriais foi proposta por Featherstone *et al.*<sup>8</sup> e modificada por Serra e Cury.<sup>9</sup>

Diversos trabalhos analisaram materiais restauradores como ionômeros de vidro e resinas poliácido-modificadas quando submetidos aos ciclos de pH.<sup>10,11,12</sup> Outros estudos submeteram resinas compostas aos ciclos de pH e analisaram seu efeito na superfície dos materiais após escovação simulada.<sup>13,14,15</sup> Considerando a necessidade de mimetizar o ambiente bucal, os ciclos de pH e a escovação simulada permitem simular dois processos importantes que ocorrem no meio bucal, aos quais os materiais restauradores são expostos constantemente.

Alguns autores compararam resinas compostas com materiais restauradores indiretos, e notaram que sua principal desvantagem ainda é a suscetibilidade da resina composta ao acúmulo de placa bacteriana.<sup>16</sup> Essa suscetibilidade eleva o risco do paciente à cáries secundárias adjacentes às margens da restauração, além da formação do biofilme contribuir para a degradação química e mecânica das restaurações de resina composta.<sup>17</sup> Alguns

autores relatam que a maior rugosidade superficial do material resinoso está diretamente relacionada com o acúmulo de biofilme à sua superfície.<sup>18</sup> A adesão bacteriana sobre resinas compostas já foi estudada por outros autores, como Montanaro *et al.*<sup>19</sup> No entanto, o efeito das variações de pH sobre a adesão bacteriana ao material restaurador resinoso ainda é pouco conhecido.

Objetivando facilitar a prática clínica, foram introduzidas no mercado odontológico as resinas compostas de incremento único, também denominadas resinas “*Bulk-Fill*”. Estes materiais permitem serem aplicados em cavidades de 4 mm a 5 mm de profundidade, de acordo com as instruções dos fabricantes, em momento único, eliminando o processo da técnica incremental. Além disso, não há aumento do tempo de fotoativação desse material, o que acaba por reduzir o tempo clínico do procedimento.<sup>20</sup>

As resinas compostas de incremento único apresentam-se em duas viscosidades: baixa viscosidade ou também dita *flow*, e alta viscosidade, também conhecida por consistência regular. Em geral, as resinas compostas tipo *Bulk-Fill flow* apresentam propriedades mecânicas inferiores às resinas compostas de consistência regular, como menor módulo de elasticidade e dureza superficial. Assim, sua indicação é para ser aplicada como base, necessitando de outro material para recobrimento oclusal, o qual deve ter maior resistência ao desgaste.<sup>21</sup> Os materiais de alta viscosidade, por sua vez, podem ser recobertos, ou não, por outro material, dependendo de sua capacidade de resistir às cargas oclusais.<sup>22</sup>

Como as alternâncias de pH atuam na superfície do material restaurador, torna-se importante analisar as resinas compostas de incremento único que não necessitam de material de cobertura. Em relação a este tópico, ainda não foram encontrados estudos na literatura que avaliaram as resinas compostas de incremento único frente às variações de pH. Considerando que esse material está disponível há pouco tempo no mercado odontológico, mostra-se relevante avaliar suas propriedades.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar, de forma quantitativa e qualitativa, a rugosidade superficial e a adesão bacteriana de resinas compostas



de incremento único frente ao efeito dos ciclos de pH seguido de escovação simulada. O estudo partiu da hipótese de que as variações de pH seguidas de escovação simulada não alteram significativamente a rugosidade superficial e a adesão bacteriana das diferentes resinas compostas de incremento único.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

No Quadro 1 estão dispostas as resinas compostas e suas características.

No Quadro 2 estão descritas as soluções empregadas nos ciclos de pH.

**Quadro 1:** Resinas compostas utilizadas no estudo.

Material/ Abreviações usadas no texto	Descrição/ Classificação dos monômeros	Composição química	Fabricante	Partículas de carga (volume %; peso%)	Tamanho das partículas	Cor	Lote
Filtek Z250 XT  (Z250)	Compósito  Micro-híbrida	Partículas de carga:  Zircônia/Sílica.  Matriz: TEGDMA Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA	60%  84,5%	0,01 $\mu$ m - 3,50 $\mu$ m  Tamanho médio (0,6 $\mu$ m)	A2	1628100449
Filtek <i>Bulk-Fill</i>  (FTK)	Resina em <i>Bulk</i> de Baixa Contração  Nanoparticulada	Partículas de carga:  Zircônia/Sílica; Trifluoreto de Itérbio  Matriz: AUDMA, AFM, DDDMA, UDMA	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA	58,4%  76,5 %	- Sílica (20nm); - Zircônia (4 a 11 nm); - Trifluoreto de Itérbio (100nm)	A2	1632700708
Tetric N- Ceram <i>Bulk-Fill</i>  (TTC)	Resina em <i>Bulk</i> de Baixa Contração  Nano-híbrida	Partículas de carga:  Bário/Sílica/Alumínio; Trifluoreto de Itérbio  Matriz: Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA	Ivoclar Vivadent, Schaan, Lietchtenstein	53 a 55%  75 a 77%	0,04 $\mu$ m - 3 $\mu$ m  Tamanho médio (0,6 $\mu$ m)	IVB	U27917
Aura <i>Bulk-Fill</i>  (AUR)	Resina <i>Bulk</i> de Baixa Contração  Nano-híbrida	Não informado	SDI Limited, Austrália	Não informado	Não informado	Cor Universal	150931

**Quadro 2:** Soluções empregadas no estudo segundo Featherstone *et al.*<sup>8</sup>

<b>Material</b>	<b>Composição</b>	<b>Laboratório</b>
Solução remineralizadora (pH=7)	1,5mM Ca (Cálcio); 0,9mM P (Fósforo); 20 mM de solução tampão TRIS (Hidroximetil amino-metano); 50 mM KCl (Cloreto de Potássio).	Faculdade de Química da PUCRS
Solução desmineralizadora (pH=4.3)	2 mM Ca (Cálcio); 2 mM P (Fósforo); 75 mM solução de acetato.	Faculdade de Química da PUCRS

## 2.2 Método

### 2.2.1: Obtenção das amostras para avaliação da rugosidade superficial

O estudo foi aprovado pela Comissão Científica da Faculdade de Odontologia da PUCRS. Quinze amostras de cada grupo foram confeccionadas na forma de discos de resina composta com os diferentes materiais avaliados: G1(controle) Z250 XT (Z250); G2: Filtek *Bulk-Fill* (FTK); G3: Tetric N-Ceram *Bulk-Fill* (TTC); G4: Aura *Bulk-Fill* (AUR). Uma matriz de silicone com orifícios de 5 mm de diâmetro e 4 mm de altura foi utilizada para auxiliar na confecção das amostras. A matriz foi posicionada sobre uma placa de vidro e os orifícios foram preenchidos com a resina composta. A resina composta Z250 foi inserida na matriz em dois incrementos de aproximadamente 2 mm cada. As resinas compostas *Bulk-Fill* FTK, TTC, AUR foram inseridas em incremento único de 4 mm.

Uma tira de poliéster foi posicionada sobre o último ou único incremento de resina composta seguida de uma placa de vidro, visando obter uma superfície plana. As resinas compostas foram fotoativadas com o aparelho de luz LED Radii-cal (SDI, Vic., Austrália), com intensidade de luz de 1200 mW/cm<sup>2</sup>, a uma distância de 1 mm da superfície da resina composta, sendo que cada incremento da resina composta Z250 e os incrementos únicos das resinas compostas *Bulk-Fill* foram fotoativados por 20 s, no sentido perpendicular à amostra.

### 2.2.2 Polimento das amostras

Após serem confeccionadas, as superfícies das amostras foram submetidas aos procedimentos de acabamento e polimento com discos abrasivos de óxido de alumínio (Sof-Lex Pop On; 3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA), usando a sequência média, fina e superfina, visando simular os procedimentos de acabamento e polimento realizados na prática clínica. Cada disco de óxido de alumínio foi aplicado em uma mesma direção durante 15 s. Um único operador executou a etapa de acabamento e polimento e, para cada amostra, um novo disco de óxido de alumínio foi utilizado. Ao concluir o polimento, as amostras foram levadas à lavadora ultrassônica em água destilada por 10 min, com finalidade de remover os resíduos deixados com o polimento.<sup>13</sup> Os discos

foram armazenados em água destilada por 24 h a 37°C em estufa de cultura FANEM.

### **2.2.3 Rugosidade superficial**

Primeiramente, foi analisada a rugosidade superficial inicial (Ra0) de cada amostra utilizando o rugosímetro SJ 201 (Mitutoyo, Kawasaki, Japão). Foram realizadas três medições consecutivas, em três diferentes regiões da mesma superfície de cada amostra (uma central, uma à direita e outra à esquerda), com *cut-off* de 0,25, sendo obtida a média das três medições. A superfície analisada foi a que recebeu a fotoativação mais próxima.

### **2.2.4 Ciclos de pH**

Cada amostra alternou pelos ciclos de desmineralização e remineralização simulando alteração cariogênica. A alteração cariogênica foi composta de quinze ciclos,<sup>11</sup> sendo que cada ciclo consistiu na imersão das amostras na solução de desmineralização durante 6 h e, posteriormente, foram imersos na solução de remineralização durante 18 h. Entre uma solução e outra, os discos de resina composta foram lavados com água deionizada durante 1 min. Cada amostra foi imersa em 10mL das soluções acima mencionadas, com base na metodologia aplicada por Valinoti *et al.*<sup>23</sup> Ao finalizar os ciclos de pH, as amostras foram submetidas à nova leitura de rugosidade superficial (Ra1).

### **2.2.5 Escovação simulada**

Foi realizada em uma máquina de escovação simulada desenvolvida pelo Instituto Ideia da PUCRS. Cada amostra foi fixada no centro (orifício) de uma placa acrílica (55 X 25 X 4 mm). O orifício central apresentou o diâmetro da amostra e altura menor que a da amostra, permitindo que a superfície de avaliação ficasse 1 mm além da borda do orifício. A fixação da amostra foi realizada com cera utilidade. Cada placa foi colocada em cuba acrílica, a qual foi fixada à máquina de escovação simulada por meio de pinos metálicos. Dentro da cuba acrílica foi colocada uma mistura composta de 1 g de pasta por 1 mL de água destilada. A pasta utilizada foi a Colgate Total 12 Professional Gengiva Saudável (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio Ltda., São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e a escova empregada era de cerdas macias (Dental Clean

Basic Color, Rabbit Indústria e Comércio de Produtos de Higiene Pessoal Ltda, Londrina, PR, Brasil). A carga aplicada foi de 200 g e a velocidade de escovação foi de 250 ciclos por min, totalizando 10.000 ciclos de escovação simulada (40 min no equipamento), o que caracterizou 1 ano de escovação em boca.<sup>15</sup> As escovas foram trocadas a cada quatro amostras escovadas de cada grupo. Após a escovação simulada, as amostras foram lavadas em água corrente e imediatamente limpas em lavadora ultrassônica por 10 min, seguida de secagem com jato de ar e nova leitura da rugosidade superficial (Ra2) como descrito para a etapa inicial.

A leitura da rugosidade superficial (Ra2) foi feita perpendicular ao sentido de escovação das cerdas das escovas. Para o correto posicionamento da amostra na máquina de escovação simulada e para garantir a leitura sempre no mesmo sentido (perpendicular à escovação simulada), foi realizada duas marcações com ponta diamantada 1011 (KG Sorensen, SP, Brasil) e caneta de alta rotação com refrigeração na porção lateral e na base de cada amostra.

#### **2.2.6 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Três amostras adicionais de cada grupo foram confeccionadas para análise em MEV. Em uma amostra de cada grupo foi observada a rugosidade superficial inicial, em outra amostra a rugosidade superficial foi analisada após os ciclos de pH, e na terceira amostra após ciclos de pH e escovação simulada. Essas amostras foram secas em desumidificadora com gel de sílica durante 72 h, metalizadas com ouro (Balzers, Liechtenstein) e observadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (JSM 6060 LV, JEOL, Tóquio, Japão) em aumento de 20.000 vezes para análise qualitativa da topografia de superfície.

#### **2.2.7 Obtenção das amostras para avaliação da adesão bacteriana**

Para análise quantitativa da adesão bacteriana foram confeccionadas amostras em triplicata de cada resina composta empregando a mesma metodologia descrita anteriormente. Os tratamentos avaliados foram: após polimento (Cn0), após ciclos de pH (Cn1), após ciclos de pH e escovação simulada (Cn2) e apenas escovação simulada (Cn\*). Assim, para essa análise, 48 amostras (12 para cada tratamento) foram confeccionadas.

Para análise qualitativa em Microscopia Eletrônica de Varredura foram confeccionadas amostras em duplicata de cada resina composta para cada tratamento realizado. Os tratamentos avaliados foram: após polimento (MEV0), após ciclos de pH (MEV1), após ciclos de pH e escovação simulada (MEV2) e após apenas escovação simulada (MEV\*). No total, foram visualizadas 32 amostras (oito para cada tratamento). A obtenção, polimento, ciclagem e escovação simulada das amostras seguiram o mesmo processo descrito anteriormente.

### **2.2.7.1 Esterilização das amostras**

As amostras foram esterilizadas com gás de óxido de etileno (ETR Esterilizadora, Porto Alegre, Brasil) buscando eliminação de qualquer microrganismo que pudesse ter aderido à superfície do material nas etapas iniciais do tratamento.<sup>24</sup>

### **2.2.7.2 Adesão de *Streptococcus mutans***

O *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ATCC 25175 armazenado a -20°C foi cultivado em BHI (Brain Heart Infusion) por 24 h à 37°C. Uma alíquota deste cultivo primário foi inoculada em um caldo BHI fresco e incubada por mais 24 h a 37°C. Após, 100 µL deste cultivo, contendo aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC/mL (unidades formadoras de colônias/mL), foram inoculados em 1 mL de caldo BHI suplementado com 1% de sacarose, onde foi colocado o bloco de resina composta a ser avaliado, e incubados por 24 h em microaerofilia a 37°C. Os ensaios foram realizados com cinco amostras, sendo três destinadas à análise bacteriana quantitativa e duas para a análise bacteriana por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As resinas compostas foram cuidadosamente removidas do cultivo e lavadas em 1 mL de solução salina a 0,85%, buscando remover as células planctônicas e manter apenas as células aderidas na superfície das resinas compostas, sendo este procedimento realizado duas vezes. Após as lavagens, as amostras destinadas à análise qualitativa foram imersas na solução fixadora (glutaraldeído a 2,5%), onde foram mantidas por 7 dias. As demais resinas compostas foram levadas ao banho de ultrassom por 10 min para desagregação do biofilme.

Após a desestruturação do biofilme, a solução salina contendo as células desagregadas foi diluída até  $10^{-6}$ . As três primeiras diluições foram semeadas pela técnica da gota e as três últimas pela técnica do espalhamento, ambas em ágar BHI, em triplicata. Essas duas técnicas foram utilizadas levando em consideração as concentrações celulares esperadas em cada diluição. As placas de ágar BHI foram incubadas em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 h, seguidas da contagem de UFC/mL. Os ensaios foram adaptados a partir de Nakamura *et al.* e Yoshihara *et al.*<sup>25,26</sup>

### **2.2.7.3 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Após a fixação, as amostras foram lavadas três vezes por 30 min cada em 0,2 mol/L de tampão de fosfato e água destilada na proporção 1:1. Então as amostras foram desidratadas por imersão em etanol 30%, 50%, 70%, 90% e 100%, secas em desumidificadora com gel de sílica durante 72 h, metalizadas com ouro (Balzers, Liechtenstein) e observadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (JSM 6060 LV, JEOL, Tóquio, Japão) em aumento de 500 à 2.000 vezes. A análise qualitativa iniciou pelo menor aumento (500x), selecionando áreas com maior concentração de biofilme bacteriano.

Na posse das imagens, um único observador cegado sobre os grupos experimentais classificou-os pela presença de bactérias através de uma classificação de posição. Foi utilizado o programa Power Point (Microsoft Corp, Redmond, EUA), de forma a cada imagem ocupar um slide, que foi transferido para a tela do computador na forma de apresentação. As imagens foram modificadas de posição de acordo com o nível de contaminação encontrada, de modo que a primeira foi a mais contaminada e a última a menos contaminada. Após a classificação por *Ranks*, a posição média do grupo foi calculada.<sup>27</sup>

## **2.3 Análise estatística**

Os resultados de rugosidade superficial foram submetidos ao teste ANOVA de dois fatores (material x tratamento), seguido do teste de Tukey. Para análise dos resultados de contagem bacteriana foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas. O nível de significância foi de 5%.



### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Rugosidade superficial

De acordo com o teste ANOVA de dois fatores, as condições material ( $p=0,016$ ) e tratamento ( $p=0,001$ ) foram significativas. A interação não foi significativa ( $p=0,265$ ) (Tabela 1).

As resinas compostas Z250, FTK e TTC não mostraram alteração significativa de rugosidade superficial independente do tratamento realizado. Entretanto, a resina composta AUR que obteve rugosidade superficial superior em Ra2 ( $p<0,05$ ). No entanto, não houve diferença estatística na rugosidade superficial entre as resinas compostas para cada tratamento (Ra0, Ra1 e Ra2) ( $p>0,05$ ), com exceção da resina composta AUR.

As resinas compostas submetidas aos ciclos de pH seguidos da escovação simulada (Ra2) tiveram suas médias de rugosidade superficial comparadas com amostras adicionais, as quais receberam somente o tratamento abrasivo com escovação simulada (Ra\*) após o mesmo polimento. O teste ANOVA de dois fatores mostrou que as condições materiais ( $p=0,214$ ) e tratamento ( $p=0,598$ ) e a interação ( $p=0,056$ ) não foram significativos.

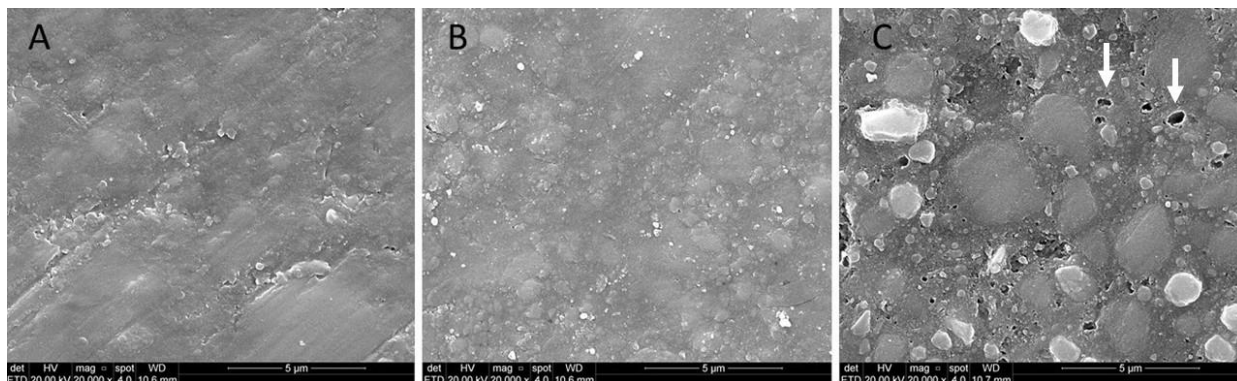
**Tabela 1.** Médias e desvios-padrões da rugosidade superficial ( $\mu\text{m}$ ) das resinas compostas após os diferentes tratamentos.

Material	Ra0 Rugosidade Inicial/ Após polimento		Ra1 Rugosidade após ciclos de pH		Ra2 Rugosidade após ciclos de pH e escovação simulada	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<b>Z250</b>	0,15 <sup>aA</sup>	0,07	0,15 <sup>aA</sup>	0,06	0,17 <sup>aA</sup>	0,05
<b>FTK</b>	0,17 <sup>aA</sup>	0,08	0,15 <sup>aA</sup>	0,09	0,18 <sup>aA</sup>	0,05
<b>TTC</b>	0,15 <sup>aA</sup>	0,06	0,19 <sup>aA</sup>	0,06	0,20 <sup>aA</sup>	0,06
<b>AUR</b>	0,19 <sup>aA</sup>	0,08	0,19 <sup>aA</sup>	0,08	0,27 <sup>bB</sup>	0,11

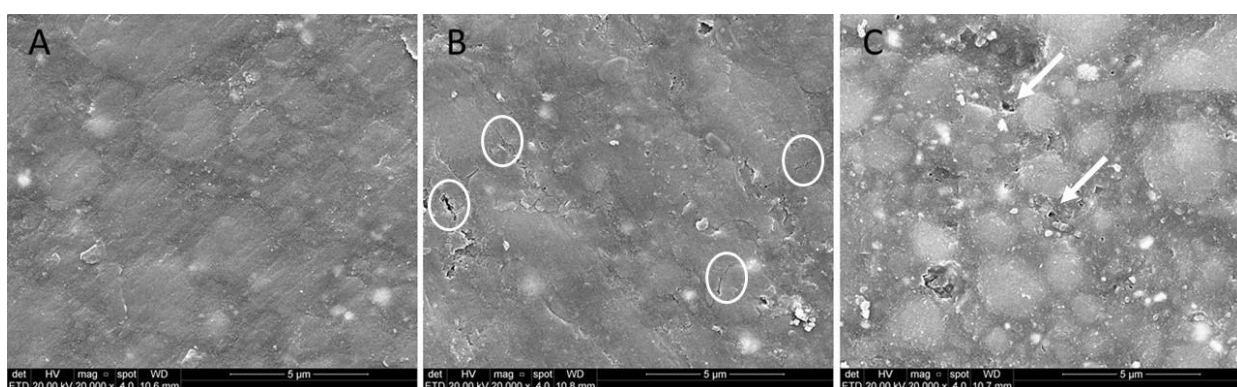
Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e letra maiúscula nas colunas não apresentam diferença estatística de acordo com o teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

### 3.2 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

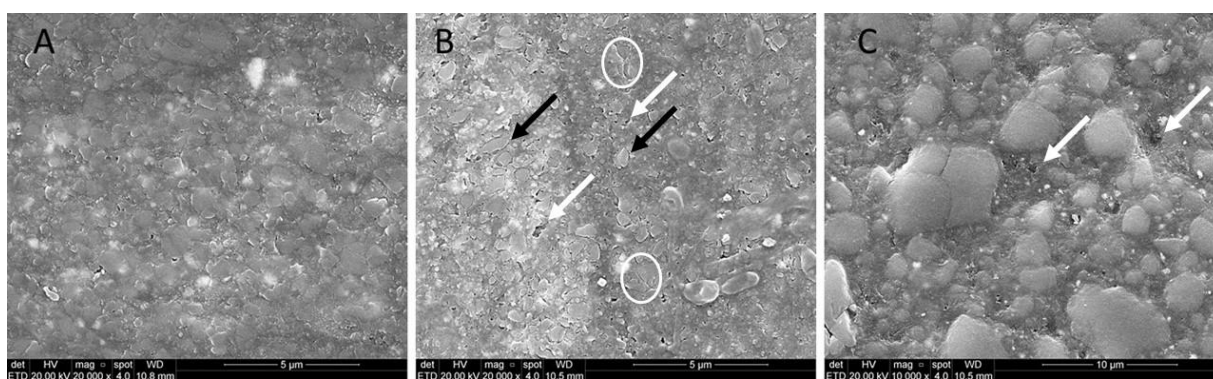
A Figura 1A demonstrou o polimento da superfície da resina composta Z250, sem remoção da matriz orgânica ou exposição das partículas de carga. Já na Figura 1B ocorreu a degradação da matriz orgânica de forma superficial devido ao contato com as alternâncias de pH. Após a escovação simulada (Figura 1C) houve a exposição das partículas de carga na superfície da resina composta micro-híbrida, além da presença de microcavidades. O mesmo ocorreu nas resinas compostas de incremento único (Figuras 2, 3 e 4). Microcavidades (setas brancas) e trinca (círculo branco) indicaram o desprendimento das cargas e degradação hidrolítica da matriz resinosa, respectivamente. As microcavidades foram visualizadas nas Figuras 1C, 2C, 3B e C, 4B e C. Fendas foram visualizadas nas Figuras 2B, 3B e 4B. Sombras ao redor de algumas partículas sugerindo que elas estejam soltas da matriz (setas pretas) foram observadas nas Figuras 3B, e 4B.



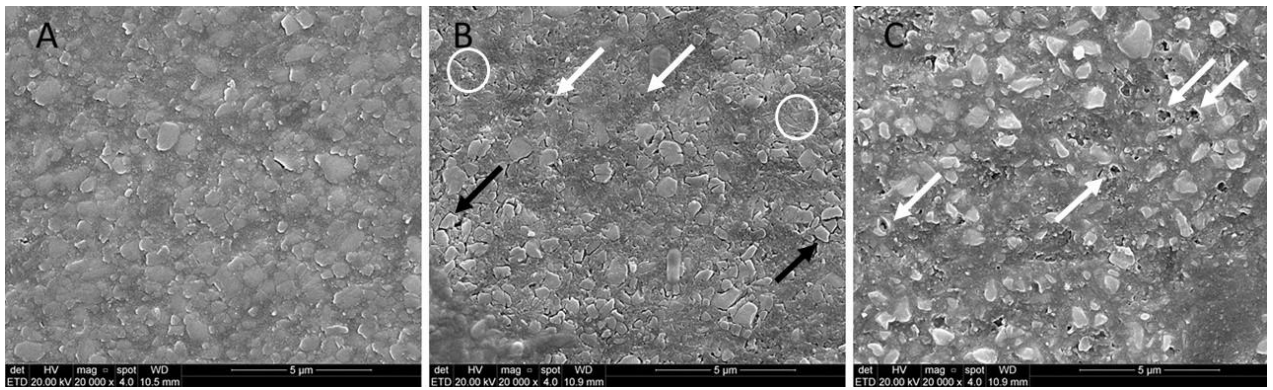
**Figura 1:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta Z250 XT nos três diferentes momentos do tratamento. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada.



**Figura 2:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta de incremento único FTK nos três diferentes momentos de tratamento. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada.



**Figura 3:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta de incremento único TTC nos três diferentes momentos do tratamento. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada.



**Figura 4:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta de incremento único AUR nos três diferentes momentos do tratamento. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada.

### 3.3 Adesão bacteriana

De acordo com a análise de Kruskal-Wallis seguida de comparações múltiplas, a resina composta FTK permitiu a adesão de um número significativamente maior de bactérias em Cn0 e Cn quando comparada às demais resinas compostas (Tabela 2). Em Cn2 não houve diferença na adesão bacteriana entre as resinas compostas. A comparação entre as resinas compostas submetidas a apenas escovação simulada (Cn\*) mostrou que um número maior de *S. mutans* foi recuperado da Z250 em relação aos outros materiais.

Na resina composta Z250 foi observado aumento estatisticamente significativo da contagem de bactérias em Cn1 e Cn\*. Na resina composta FTK ocorreu redução significativa na contagem de bactérias de Cn1 para Cn2, reduzindo ainda mais em Cn\*, porém sem diferença estatística com Cn2. Nas resinas compostas TTC e AUR não foi evidenciada diferença significativa diferiram entre os tratamentos.

**Tabela 2:** Valores medianos de contagem bacteriana ( $10^6$ ) das diferentes resinas compostas nos diferentes tratamentos.

<b>Material</b>	<b>Cn0 Contagem Inicial /Após polimento</b>	<b>Cn1 Contagem após ciclos de pH</b>	<b>Cn2 Contagem após ciclos de pH e escovação simulada</b>	<b>Cn* Contagem após apenas escovação</b>
	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )
	Mediana	Mediana	Mediana	Mediana
<b>Z250</b>	7,00 <sup>aA</sup>	14,00 <sup>aB</sup>	1,80 <sup>aA</sup>	15,00 <sup>bB</sup>
<b>FTK</b>	31,60 <sup>bBC</sup>	39,00 <sup>bC</sup>	12,70 <sup>aAB</sup>	1,90 <sup>aA</sup>
<b>TTC</b>	0,60 <sup>aA</sup>	3,50 <sup>aA</sup>	2,30 <sup>aA</sup>	2,40 <sup>aA</sup>
<b>AUR</b>	2,00 <sup>aA</sup>	2,60 <sup>aA</sup>	2,00 <sup>aA</sup>	6,60 <sup>aA</sup>

Medianas seguidas de mesma letra minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente pelo teste de comparações múltiplas.

### **3.4 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

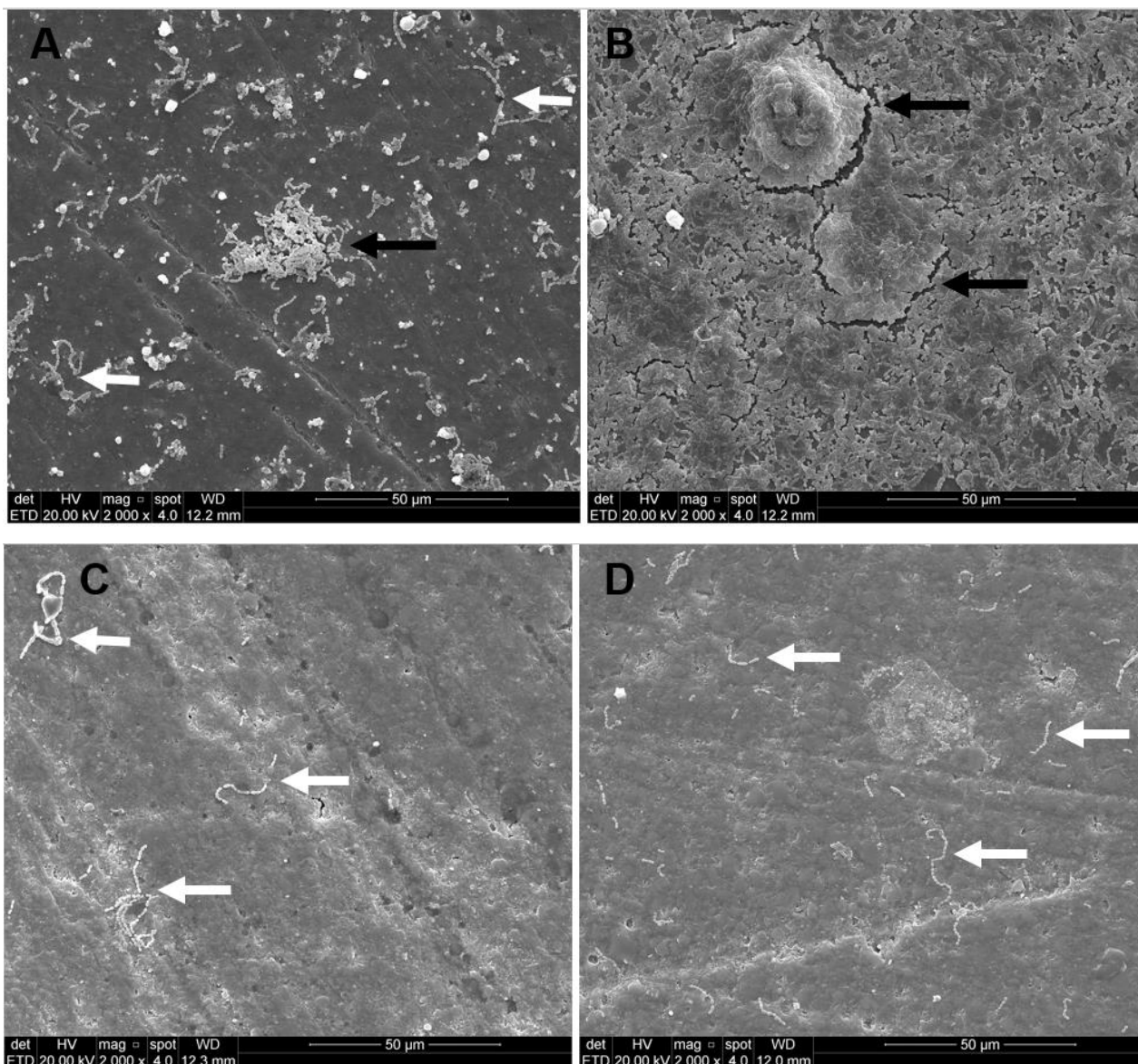
A Figura 5A demonstrou a adesão bacteriana na superfície após o polimento da resina composta do grupo controle, com bactérias dispersas pela amostra (setas brancas), além da formação de um aglomerado de bactérias (setas pretas). Já na Figura 5B foi possível observar maior adesão bacteriana do que em 5A, formando um número maior de aglomerados após a ação das alternâncias de pH. Após a escovação simulada (Figura 5C) ocorreu redução da adesão bacteriana sobre a resina composta micro-híbrida, comparando com as Figuras 5A e B. A Figura 5D mostrou aumento da adesão bacteriana se comparada com a Figura 5C, porém tanto em 5C como em 5D não ocorreu formação de aglomerados.

A resina composta FTK, na Figura 6A, evidenciou adesão bacteriana de forma dispersa à superfície após o polimento, sem formação de aglomerados bacterianos. Já na Figura 6B ocorreu um aumento exponencial da adesão bacteriana após os ciclos de pH, com formação de aglomerados sobre toda a superfície da amostra. Ao passar pela escovação simulada (Figura 6C), foi

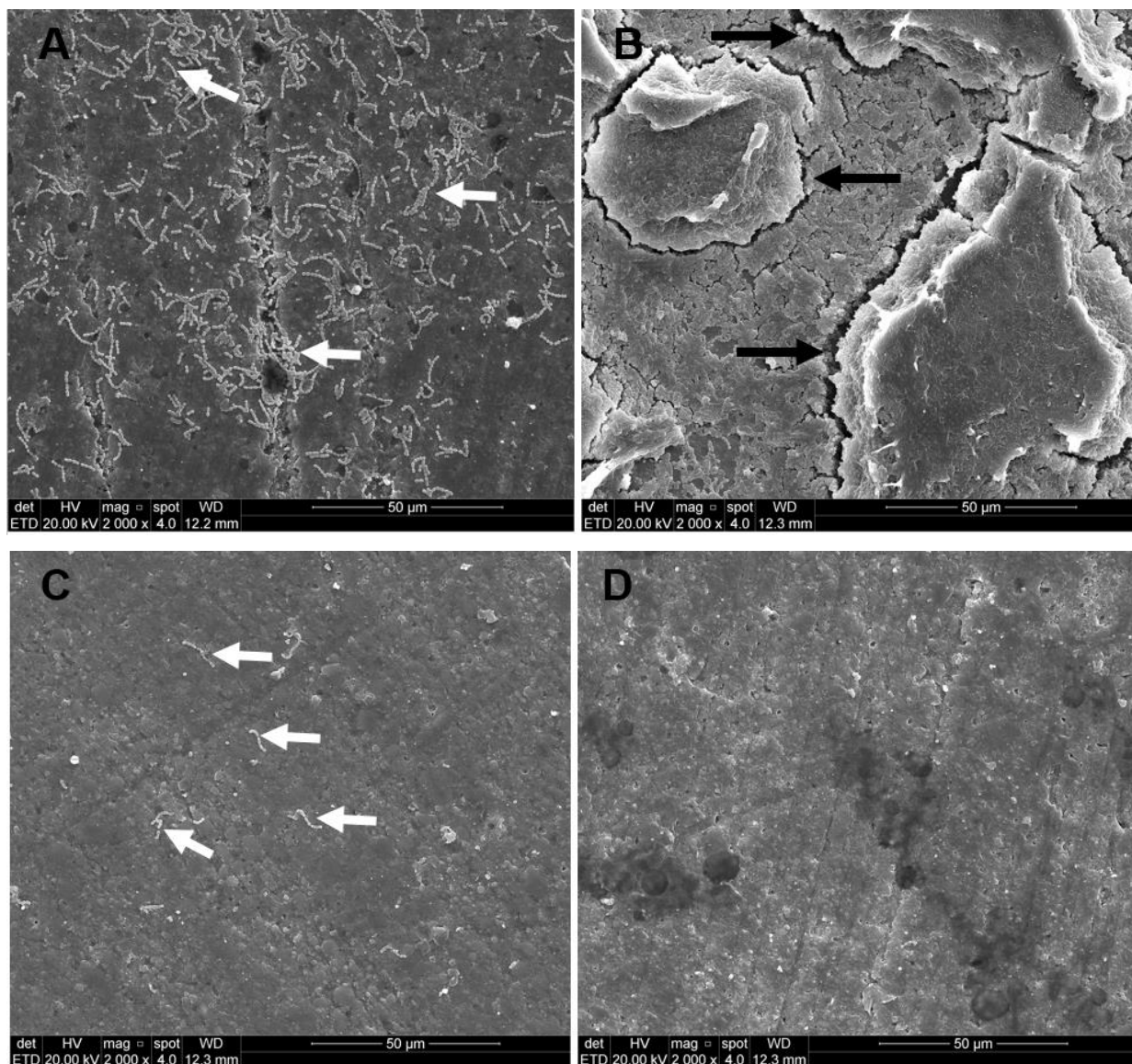
possível observar a redução da adesão bacteriana em comparação a Figura 6B, com apenas algumas bactérias dispersas na amostra. A Figura 6D não mostrou adesão sobre a superfície após apenas a escovação simulada.

Nas Figuras 7A, C e D foi possível observar adesão bacteriana semelhante nos três diferentes tratamentos de superfície. A maior adesão bacteriana na resina composta TTC foi observada após os ciclos de pH (Figura 7B), com bactérias dispersas na amostra, penetrando nas trincas (círculos brancos) produzidas pelo contato da resina composta com as soluções desmineralizadoras e remineralizadoras. Não houve formação de aglomerados sobre essa superfície.

As Figuras 8A, B e C mostraram adesão bacteriana semelhante na superfície da resina composta AUR, independente do processo a qual foi submetida. Houve a formação de aglomerados, assim como bactérias dispersas em todas as superfícies. No entanto, no processo de apenas escovação simulada (Figura 8D), as bactérias aderiram de forma dispersa na superfície, em menor quantidade se comparada com as demais figuras de adesão bacteriana da mesma resina composta. Não ocorreu formação de aglomerações bacterianas.

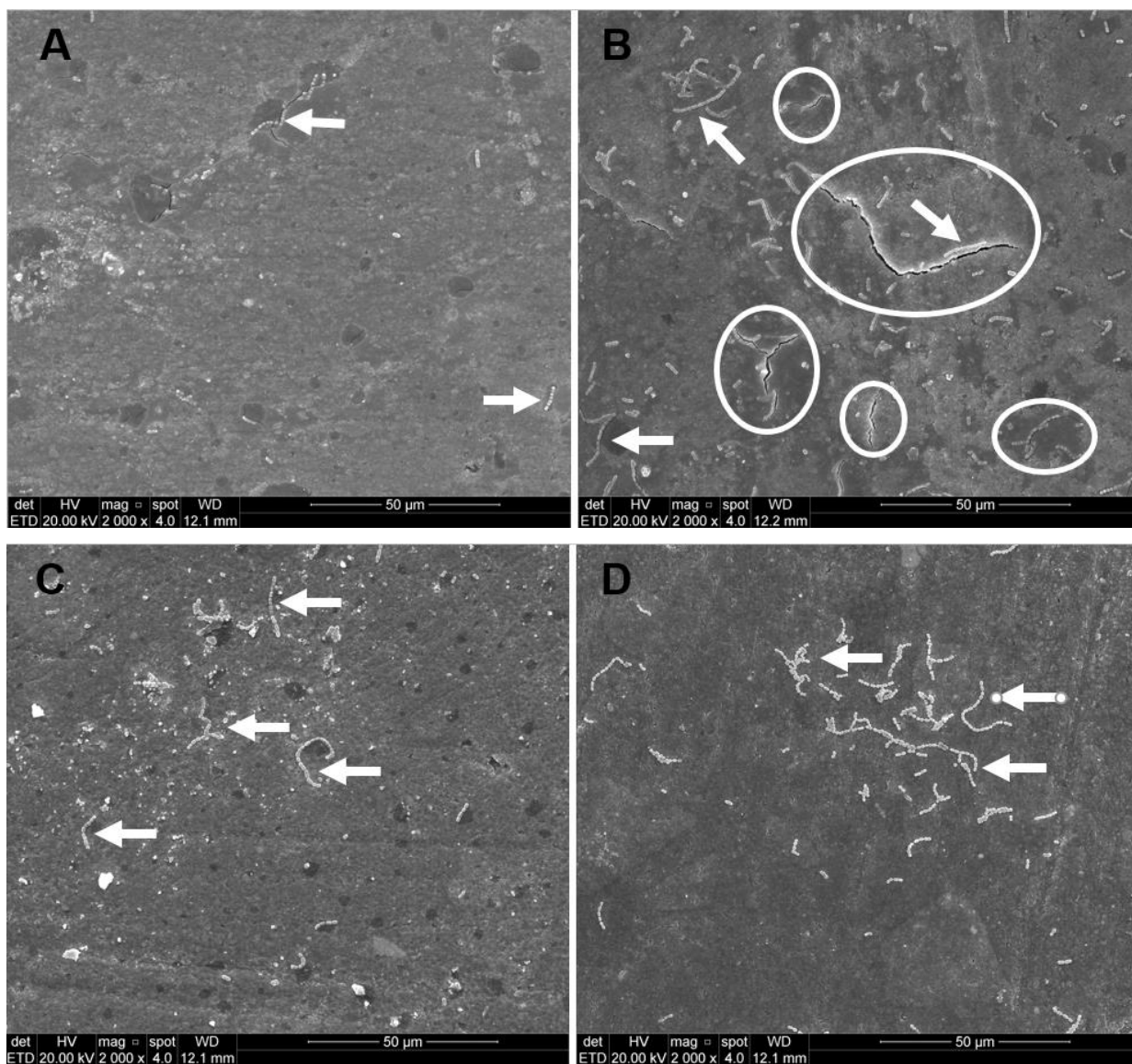


**Figura 5:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta Z250 XT nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.

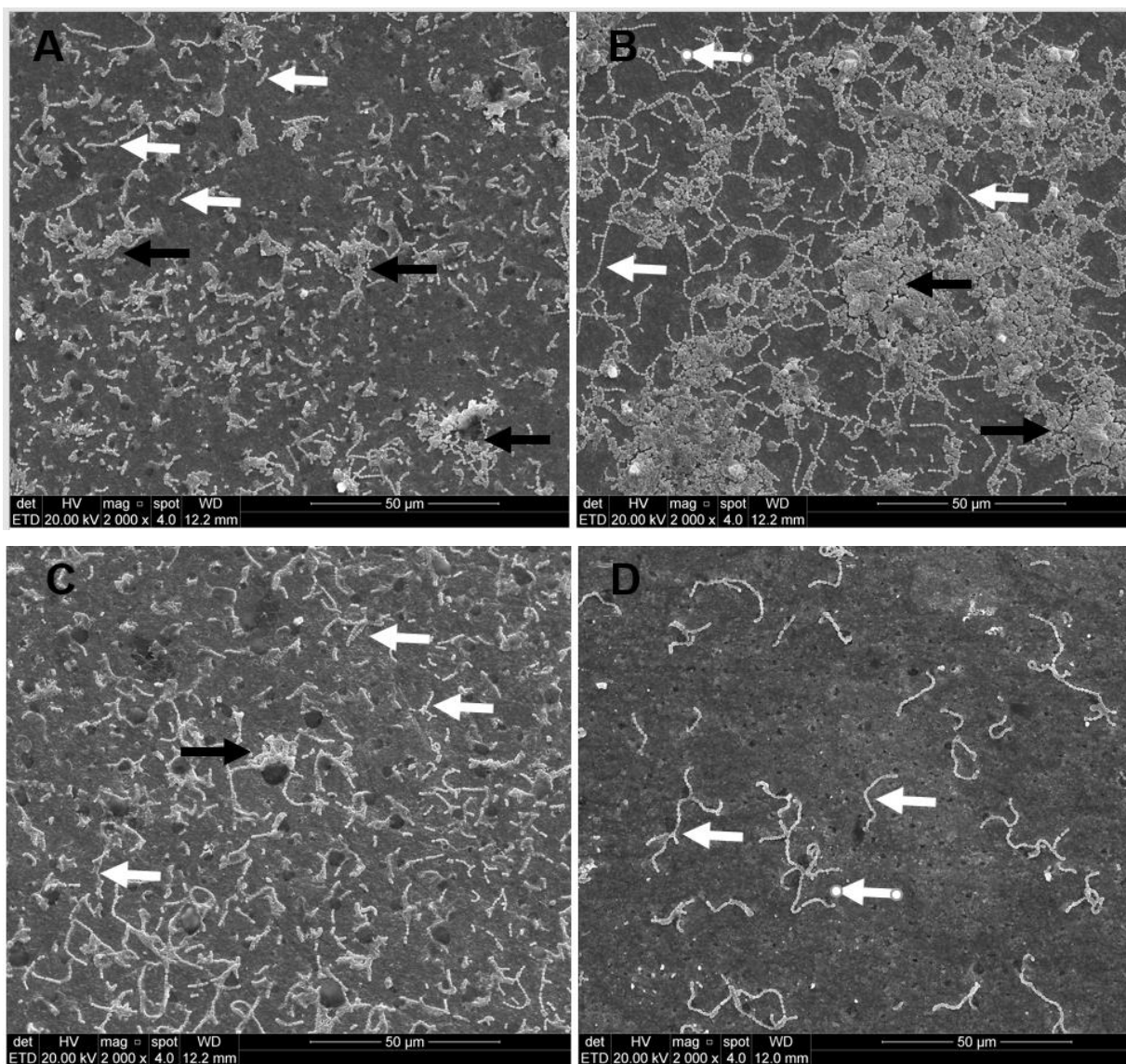


**Figura 6:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta de incremento único FTK nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.





**Figura 7:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta de incremento único TTC nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.



**Figura 8:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta de incremento único AUR nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ciclos de pH, C) após ciclos de pH e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.

#### 4. DISCUSSÃO

No presente estudo, a rugosidade superficial aumentou significativamente apenas para a resina composta AUR após os ciclos de pH seguido de escovação simulada. Desta forma, a hipótese para a rugosidade superficial foi parcialmente rejeitada.

De acordo com os resultados obtidos, os ciclos de pH isoladamente não mostraram alteração da rugosidade superficial nas diferentes resinas compostas avaliadas. O mesmo foi observado por outros autores quando submeteram resinas compostas às variações de pH. Os materiais ionoméricos mostraram alterações na superfície, porém as resinas poliácido-modificadas e as resinas compostas não foram alteradas com o desafio cariogênico.<sup>12</sup> Concordando com os resultados obtidos no presente estudo, Oliveira et al.<sup>28</sup> também observaram que as variações de pH não modificaram a rugosidade superficial de duas resinas compostas micro-híbridas e uma resina composta nanoparticulada quando submetidas à 15 ciclos de alteração cariogênica. Portanto, as resinas compostas avaliadas foram efetivas na manutenção da rugosidade superficial frente aos ciclos de pH.

Quando os materiais restauradores foram submetidos ao processo de abrasão por escovação simulada após desafio cariogênico (Ra2), houve alteração na rugosidade superficial da resina composta AUR. A alteração da rugosidade superficial do material está diretamente relacionada com o desgaste dessa superfície.<sup>29,30</sup> Em 1980, alguns autores consideraram mecanismos que podem levar ao desgaste das restaurações de resinas compostas: 1) desgaste da matriz resinosa; 2) perda de partículas de carga por falha na união com a matriz resinosa; 3) perda de carga através do cisalhamento de partículas expostas; 4) perda de carga devido a trincas na matriz; 5) exposição de bolhas de ar inerentes ao processo restaurador.<sup>31</sup> Como não há informações sobre a composição da resina composta AUR, sugere-se que a exposição do material restaurador a um baixo pH atacou a matriz polimérica dessa resina composta nano-híbrida através da catalisação dos grupos éster dos monômeros dimetacrilatos presentes na porção orgânica da resina composta. A hidrólise dos grupos ésteres pode formar moléculas de ácido carboxílico e álcool, as quais aceleraram a degradação da resina composta pelo contato do pH ácido com sua

matriz orgânica.<sup>32</sup> Ao degradar essa matriz houve a exposição das partículas de carga. Já que a rugosidade aritmética é uma medida basicamente quantificada por parâmetros de altura (amplitude) e largura (espaçamento) das irregularidades ou combinação de ambos,<sup>33</sup> quando a resina composta foi submetida ao mecanismo de abrasão por escovação, as partículas de carga foram removidas da superfície pelo processo de cisalhamento, deixando microcavidades e trincas na matriz resinosa, o que também pode justificar o aumento da rugosidade superficial.<sup>30,31</sup>

Todas as resinas compostas, independente do tratamento, obtiveram rugosidade superficial aceitável clinicamente, que seria uma rugosidade superficial não superior a 0,2  $\mu\text{m}$ . De acordo com Bollen, Lambrechts e Quirynen,<sup>18</sup> rugosidades superficiais acima de 0,2  $\mu\text{m}$  favorecem a retenção bacteriana. Apesar dos ciclos de pH, seguido ou não de escovação simulada, não terem influenciado de forma significativa a rugosidade superficial na análise quantitativa, as imagens em MEV evidenciaram nítida alteração da topografia superficial das resinas compostas. As imagens que evidenciam a superfície das amostras submetidas apenas à escovação simulada ( $Ra^*$ ) não foram acrescentadas na análise, pois não houve diferença estatística entre  $Ra_2$  e  $Ra^*$ .

Microcavidades foram observadas nas resinas compostas TTC e AUR após os ciclos de pH. A presença de microcavidades também foi observada em outro estudo ao avaliar as resinas compostas híbridas e nanoparticulada sem contato com soluções de baixo pH.<sup>34</sup> Microcavidades ficaram evidentes em todas as resinas compostas após escovação simulada. Essas microcavidades podem ter sido formadas devido à absorção de água por parte das soluções empregadas na matriz resinosa. Quanto maior porcentagem de matriz orgânica da resina composta e menor a qualidade de união entre porção orgânica e inorgânica do material resinoso, mais suscetível a resina composta fica à absorção. Essa absorção promove a hidrólise do silano e consequente desprendimento das partículas de carga, formando assim as microcavidades.<sup>35</sup> As trincas encontradas no presente estudo nas resinas compostas de incremento único TTC, FTK e AUR, após serem submetidas à ciclagem de pH, foram discutidas por outros autores. Segundo eles, as trincas podem estar relacionadas com o aumento da pressão osmótica na interface carga/matriz e

consequente degradação hidrolítica do material.<sup>36</sup> Assim, foi possível concluir que as variações de pH geraram trincas na superfície das resinas compostas de incremento único devido à absorção de água das soluções pela matriz resinosa. A separação das partículas de carga da matriz resinosa observadas após a alteração cariogênica nas resinas compostas FTK e AUR (setas pretas) condizem com as explicações acima sobre degradação hidrolítica. Ainda, essas partículas soltas não apareceram nas imagens após ciclos de pH e escovação simulada, pois com o processo abrasivo elas foram soltas da superfície.

As resinas compostas de incremento único TTC e AUR apresentaram valores de Ra2 iguais e superiores a 0,2 µm, respectivamente, o que favorece o acúmulo de placa bacteriana na superfície do material restaurador.<sup>18</sup> As trincas e microcavidades observadas nas Figuras 4B e 4C, presentes na interface matriz/carga favorecem a adesão bacteriana.<sup>37</sup> O acúmulo de placa bacteriana na superfície da resina composta pode facilitar a degradação do material pelo baixo pH do biofilme,<sup>38</sup> além de favorecer a formação de cárie secundária, principal fator responsável pela falha em restauração de resinas compostas.<sup>39</sup>

A esterilização em autoclave das amostras não foi possível já que esse processo altera as propriedades das resinas compostas. Como o óxido de etileno é um gás, ele é menos agressivo ao material restaurador. No entanto, já existem estudos que comprovam seu efeito sobre as resinas compostas.<sup>40</sup>

No presente estudo, a contagem bacteriana após ciclos de pH e escovação simulada não diferiram significativamente da contagem bacteriana inicial, sendo aceita a hipótese.

Quanto a aderência de bactérias à superfície, idealmente, restaurações em resina composta devem ter baixa suscetibilidade para aderência de bactérias. Segundo Bollen *et al.*<sup>18</sup> a adesão bacteriana ao substrato ocorre em quatro fases: A) transporte da bactéria para a superfície; B) adesão inicial; C) conexão por interações específicas e D) colonização para formar um biofilme. Na adesão e retenção bacteriana inicial, as bactérias e a superfície do material interagem entre si através de uma combinação de forças atrativas de van der Waal e forças repulsivas eletrostáticas. Em contato com superfícies rugosas, as bactérias ficam protegidas contra forças de cisalhamento e podem, assim, ter

tempo suficiente para se contatar com o material. Assim, a adesão bacteriana é principalmente influenciada pelas características da superfície dos materiais, particularmente a rugosidade superficial e a energia livre de superfície, as quais são diretamente proporcionais.<sup>18</sup>

A resina composta Z250 mostrou aumento da contagem bacteriana de forma significativa após ciclos de pH (Cn1) e após apenas escovação (Cn\*). O aumento da contagem bacteriana após os ciclos de pH nessa resina composta pode ser justificado pela afinidade do *S. mutans* em se aderir à superfícies ácidas, já que esses apresentam característica acidófila,<sup>41</sup> (remover essa parte, ou reescrever sugerindo!) além da capacidade das variações de pH de modificar a superfície resinosa, alterações as quais já foram descritas acima, deixando irregularidades na superfície do material resinoso e proporcionando um meio favorável à adesão bacteriana. As imagens em MEV demonstraram maior adesão bacteriana após ciclos de pH quando comparadas a após polimento nas resinas compostas Z250 e FTK (Figuras 5B e 6B).

A maior adesão bacteriana sobre a superfície da resina composta Z250 em comparação com os demais materiais restauradores nos dois diferentes tratamentos (Cn1 e Cn\*) pode estar associada à composição desse material. Como descrito acima, a resina composta Z250, por ser um material micro-híbrido, apresenta partículas de carga maiores que as demais resinas compostas testadas, o que favoreceu o desgaste, aumentou a rugosidade superficial e, conseqüentemente, a adesão bacteriana.

Ainda, Yuan *et al.*<sup>42</sup> observaram diferentes resultados de adesão bacteriana quando compararam quatro resinas compostas, entre elas a Z250 e uma resina composta a base de silorano, a qual, segundo o fabricante, apresenta menor contração de polimerização, mesmo princípio das resinas compostas de incremento único. Esses autores notaram que a adesão bacteriana nem sempre está relacionada unicamente à rugosidade superficial do material, mas também a energia livre de superfície. Para eles, a diferença na energia livre de superfície dos materiais resinosos ocorre devido à composição das partículas de carga das resinas compostas. As resinas compostas avaliadas nesse estudo apresentam partículas de carga de zircônia e sílica, como as resinas compostas Z250 e FTK, enquanto a resina composta TTC apresenta partículas de bário, sílica e alumínio,

além de trifluoreto de itérbio. Esses autores sugerem que o polimento ou processo abrasivo na superfície do material resinoso, não apenas remove a matriz orgânica e expõe as partículas de carga, mas também produz uma espécie de “*smear layer* resinosa”, a qual altera a energia de superfície do material. Segundo eles, o *S mutans* tem maior facilidade de adesão a substratos com alta energia de superfície. Nas imagens em MEV do presente estudo não foi possível notar essa “*smear layer* resinosa”, assim como ocorreu nas imagens do estudo de Yan *et al.*<sup>42</sup> Portanto, sugere-se futuros estudos para explicar esse fenômeno.

Houve redução significativa da contagem bacteriana da resina composta Z250 em Cn2 em comparação a Cn1. O mesmo foi observado na resina composta FTK em Cn2 e Cn\* em comparação a Cn1. Ambos tratamentos (Cn2 e Cn\*) incluíram escovação simulada. O mesmo resultado foi observado nas imagens em MEV, tanto para a resina composta Z250 (Figura 5C), como também para a resina composta FTK (Figura 6C e 6D). Considerando a presença de dentifrício fluoretado no processo de escovação simulada, foi possível justificar a diminuição da adesão bacteriana pelo efeito do Fluoreto de Sódio sobre *S. mutans*.<sup>43</sup> Outro componente do dentifrício utilizado no estudo que pode ter influenciado na menor adesão bacteriana foi o Triclosan a 0,3%. Essa substância possui largo espectro de ação antimicrobiana, que quando em concentrações bacteriostáticas, previne a síntese proteica e, em concentrações bactericidas, desorganiza a membrana citoplasmática da bactéria, extravasando seu conteúdo intracelular.<sup>44</sup> Em menores concentrações (0,2 a 0,5%), afeta o metabolismo de algumas espécies, como o *S. mutans*, podendo ter influenciado na menor adesão bacteriana na superfície desses materiais restauradores.<sup>45</sup>

Além disso, a resina composta Z250 evidenciou aumento da contagem bacteriana após apenas escovação (Cn\*) em comparação às resinas *Bulk-Fill* avaliadas, o que pode ser explicado pela maior rugosidade superficial do material quando submetido apenas ao processo abrasivo e conseqüente maior adesão bacteriana ao substrato poroso. Hu *et al.*<sup>46</sup> analisaram a influência da quantidade e tamanho das partículas de carga na resistência ao desgaste das resinas compostas e concluiu que partículas de carga menores apresentaram menor propensão ao desgaste e que porcentagens abaixo de 60% em peso de

partículas aumenta o desgaste do material; quando o peso varia de 60 a 75% a superfície do material permanece intacta. Considerando que a taxa de desgaste das resinas compostas está associada ao tamanho das partículas de carga, ao tipo de partículas, distribuição e ainda quantidade da mesma,<sup>47</sup> as resinas compostas *Bulk-Fill* avaliadas, por apresentam partículas nanométricas em comparação à resina composta Z250 (resina micro-híbrida) podem demonstrar vantagens quanto ao desgaste de superfície, de forma a evidenciar menor desgaste e, conseqüentemente menores valores de rugosidade superficial quando submetidas a processos abrasivos.

Já a resina composta TTC evidenciou trincas na sua superfície após a ação dos ciclos de pH (Figura 7B), as quais podem ter sido provocadas pela degradação da matriz orgânica do material em contato com o líquido das soluções, devido à absorção de água. Essas trincas favoreceram a adesão bacteriana, já que permitiram ambiente favorável ao crescimento bacteriano,<sup>37</sup> o que pode ser observado pela proximidade dos *S. mutans* das irregularidades da superfície.



## 5. CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo, foi possível concluir que:

- Os ciclos de pH não alteraram a rugosidade superficial das resinas compostas Z250, FTK, TTC e AUR. A escovação simulada após os ciclos de pH causou um aumento da rugosidade superficial apenas para a resina composta AUR;

- A adesão bacteriana ocorreu em todas as resinas compostas. No entanto, os ciclos de pH favoreceram a maior adesão bacteriana apenas na resina composta Z250. A escovação simulada após os ciclos de pH reduziu a adesão bacteriana apenas nas resinas compostas Z250 e FTK.

- A topografia de superfície de todas as resinas compostas ficou alterada frente aos diferentes tratamentos, ocorrendo formação de trincas após ciclos de pH e presença de microcavidades após ciclos de pH e escovação simulada.

- A análise qualitativa mostrou maior adesão bacteriana após ciclos de pH das resinas compostas Z250 e FTK, ocorrendo redução da adesão bacteriana nessas resinas compostas após escovação simulada.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Aliping M, Linden RWA, Nicholson JW. The effect of Coca-Cola and fruit juice on the surface hardness of glass-ionomers and compomers. *J Oral Rehabil* 2004; 31:1046-52.
2. Bagueri R, Tyas MJ, Burrow MF. Subsurface degradation of resin based composites. *Dent Mater* 2007; 23: 944-51.
3. Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume WR. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mater* 2001; 17(1): 34-39.
4. Cattani MA, Dupuis V, Moya F, Payan J, Meyer M. Comparative study of the physical properties of a polyacid-modified composite resin and a resin-modified glass ionomer cement. *Dent Mater* 1999; 15(1): 21-32.
5. Featherstone JDB. The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004; 83: 39-42.
6. Cury JA. Fluoridetherapy. *Quintessence* 1993; 43-67.
7. Tem Cate JM. In vitro studies on the effect of fluoride on De- and Remineralization. *J Dent Res* 1990; 69: 614-19.
8. Featherstone JDB, O'Reilly MM, Shariati M, Brugler S. Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. *Oxford* 1986; 23-34.
9. Serra MC, Cury JA. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. *Quintessence* 1992; 23:143-47.
10. Komatsu H *et al.* Fluoride analysis of human enamel around fluoride-containing materials under different pH-cycling by PIGE/PIXE system. *Nuc Instr and Meth in Physics Res* 2011; 2274-77.
11. Bahadure RN, Pandey RK, Kumar R, Gopal K, Singh RK. An estimation of fluoride release from various dental restorative materials at different pH: *In vitro* study. *J of Indian Soc of Pedod and Prevent Dent* 2012; 30(2): 122-26.

12. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent* 2007; 32:328-35.
13. Carvalho FG, Sampaio CS, Fucio SBP, Carlo HL, Correr- Sobrinho L, Puppini-Rontani RM. Effect of chemical and mechanical degradation on surface roughness of three glass ionomers and nanofilled resin composite. *Oper Dent* 2012; 37(5): 509-17.
14. Ishikiriama SK, Oliveira GU, Maenosono RM, Wang L, Duarte MAH, Mondelli RFL. Wear and surface roughness of silorane composites after Ph cycling and toothbrushing abrasion. *Am J Dent* 2014; 27(4): 195-97.
15. Turssi CP, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues AL. Surface roughness assessment of resin-based materials during brushing preceded by ph-cycling simulation. *Oper Dent* 2001; 26: 576-84.
16. De Fúcio SBP, Puppini-Rontani RM, De Carvalho FG, De Mattos-Graner RO, Correr-Sobrinho L, Garcia-Godoy F. Analyses of biofilmes accumulated on dental restorative materials. *Am J Dent* 2009; 22:131-36.
17. Beyth N, Yudovin-Fearber I, Domb AJ, Weiss EI. Long-term antibacterial surface properties of composite resin incorporating polyethyleneimine nanoparticles. *Quintessence Int* 2010; 41: 827-35.
18. 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.
19. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, Arciola CR. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomater* 2004; 25(18): 4457-63.
20. Walter R. Critical appraisal: bulk-fill flowable composite resins. *J Esthet Restor Dent* 2013; 25(1):72-6.
21. Llie N, Butuca S, Draenert D. Bulk-fill resin-based composites: an in vitro assessment of their mechanical performance. *Oper Dent* 2013; 38(6):618-25.

22. Kim EH, Jung KH, Son SA, Hur B, Kwon YH, Park JK. Effect of resin thickness on the microhardness and optical properties of bulk-fill resin composites. *Rest Dent. Endod* 2015; 40(2): 128-35.
23. Valinoti AC, Neves BG, Silva EM, Maia LC. Surface degradation of composite resins by acidic medicines and pH-cycling. *J Appl Oral Sci* 2008; 16(4): 257-65.
24. Morgental RD, Vier FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J* 2011; 44(12):1128-33.
25. Nakamura K, Shirato M, Kanno T, Lingström P, Örtengren U, Niwano Y. Photo-irradiated caffeic acid exhibits antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* biofilms via hydroxyl radical formation. *Sci Rep* 2017; 7(1): 6353
26. Yoshihara K, Nagaoka N, Maruo Y, Sano H, Yoshida Y, Van Meerbeek B. Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler. *Dent Mater* 2017; 33(6): 723-34.
27. Gründling GL, Zechin JG, Jardim WM, de Oliveira SD, de Figueiredo JA. Effect of ultrasonics on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model. *J Endod* 2011; 37(8):1128-33.
28. De Oliveira GU. Avaliação do desgaste e da alteração da rugosidade superficial em resinas compostas de diferentes características submetidas à escovação simulada e ciclagem de pH [dissertação]. São Paulo. Universidade de São Paulo; 2011
29. Mondelli RFL, Azevedo JFDG, Fracisconi PAS, Ishikiriyama SK, Modelli J. Wear and surface roughness of bovine enamel submitted to bleaching. *The Eur J Esthet Dent* 2009; 4(4): 396-403.
30. Ferreira ACF *et al.* Influência da escovação mecânica na manutenção do acabamento com resinas fluidas sobre compósitos odontológicos. *Rev Paulist de Odont* 2002; 30(7): 18-22.
31. O'Brien WJ, Yee J Jr. Microstructure of posterior restorations of composite resin after clinical wear. *Oper Dent* 1980; 5(3): 90-4.

32. Gopferich A. Mechanisms of polymer degradation and dimension. *Biomater* 1996; 17(2): 103-14.
33. Carpinetti LCRC, Gonçalves Filho EV, Porto AJV, Jasiñevicius RG. Rugoidade superficial: conceitos e princípios de medição. São Carlos: Seção de Publicações da EESC-USP 1996.
34. Almeida GS, Poskus LT, Guimarães JGA, Silva EM. The effect of mouthrinses on salivary sorption, solubility and surface degradation of a nanofilled and a hybrid resin composite. *Oper Dent* 2010; 35: 105-11.
35. Lepri CP, Ribeiro MVM, Dibb A, Palma-Dibb RG. Influence of mouth rinse solutions on the color stability and microhardness of a composite resin. *The Intern J Esthet Dent* 2014; 9: 238-46.
36. Söderholm KJ, Zigan M, Ragan M, Fischlschweiger W, Bergman M. Hydrolytic degradation of dental composites. *J Dent Res* 1984; 1248-54.
37. Buegers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent Mater* 2009; 25(2): 269-75.
38. Münchow EA, Ferreira ACA, Machado RMM, Ramos TS, Rodrigues-Junior AS, Zanchi CH. Effect of acid solution on the surface degradation of a micro-hybrid composite resin. *Braz Dent J* 2014; 25(4): 321-26.
39. Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dent Mater* 2015; 31(11):247-77.
40. Ahmed M, Punshon G, Darbyshire A, Seifalian AM. Effects of sterilization treatments on bulk and surface properties of nanocomposite biomaterials. *J Biomed Mater Res* 2013; 101(B):1182–90.
41. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(4): 499–515.

42. Yuan C, Wang X, Gao X, Chen F, Liang X, Li D. Effects of surface properties of polymer-based restorative materials on early adhesion of *Streptococcus mutans in vitro*. J Dent 2016; (54): 33-40.
43. Evans A, Leishman SJ, Walsh LJ, Seow WK. Inhibitory effects of children's toothpastes on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus acidophilus*. Eur Arch Paediatr Dent. 2015;16(2):219-26.
44. Volpe AR *et al*. Revisão dos estudos de eficácia clínica contra placa e Gengivite com um dentifrício contendo triclosan e PVM/MA. J Clin Dent 1993; (7).
45. Davies RM, Ellwood RP, Davies GM. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. J Clin Periodontol 2004; 31(12):1029-33
46. Hu X, Marquis PM, Shortall AC. Influence of filler loading on the two-body wear of dental composite. J Oral Rehab 2003; 30(7): 729-37.
47. The Dental Advisor. Resina composta em posteriores. Dois Córregos 1994; 1(1) 5.

## ARTIGO 2: EFEITO DO ÁCIDO GÁSTRICO NA SUPERFÍCIE DE RESINAS COMPOSTAS DE INCREMENTO ÚNICO

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar de forma quantitativa e qualitativa o efeito do ácido gástrico na rugosidade superficial e na adesão bacteriana nas resinas compostas de incremento único (*Bulk-Fill*) seguido de escovação simulada. **Materiais e Métodos:** Trinta amostras de cada resina composta (diâmetro de 5mm e altura de 4mm) foram obtidas - G1(controle): Z250; G2: Filtek *Bulk-Fill* (FTK); G3: Tetric N-Ceram *Bulk-Fill* (TTC); G4: Aura *Bulk-Fill* (AUR). As amostras foram confeccionadas e polidas após 24 h. As amostras foram imersas em 10 ml de ácido gástrico durante 24 h em 37°C. Na sequência, as resinas compostas foram submetidas à escovação simulada. As medidas de Rugosidade Superficial (Ra) e Contagem bacteriana (Cn) foram obtidas em três diferentes etapas: inicial (Ra0 e Cn0), após ácido gástrico (Ra1 e Cn1) e após ácido gástrico e escovação simulada (Ra2 e Cn2). Amostras adicionais foram submetidas unicamente ao teste de escovação simulada e receberam as mesmas medições (Ra\* e Cn\*). ANOVA de dois fatores foi utilizada para avaliação de Ra, seguida do teste de Tukey. Para análise de Cn foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas. O nível de significância foi de 5%. A topografia superficial e a adesão bacteriana foram observadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV). **Resultados:** Z250 e FTK tiveram aumento significativo na rugosidade superficial em Ra1. Em Ra2, as quatro resinas compostas não diferiram estatisticamente de Ra0, porém houve redução significativa das médias em Ra2 da Z250 e FTK em comparação a Ra1. Para Cn, Z250 e FTK permitiram maior acúmulo de biofilme em relação à TTC e AUR. Imagens em MEV evidenciaram formação de trincas e exposição de partículas de carga em Ra1, ocorrendo desprendimento das partículas de carga expostas. Microcavidades foram observadas em todas as resinas compostas em Ra2. A adesão bacteriana ocorreu em todas as resinas compostas independente do tratamento. Houve maior adesão bacteriana em Cn1, seguida de redução da adesão bacteriana em Cn2 para todos os materiais testados, exceto pela AUR. **Conclusão:** O ácido gástrico aumentou a rugosidade superficial das resinas compostas Z250 e FTK, assim como promoveu maior acúmulo bacteriano em relação às resinas compostas TTC e AUR. Houve degradação da superfície de todas as resinas compostas, assim como adesão bacteriana.

Palavras-chaves: ácido gástrico, resinas compostas, escovação dentária, propriedades de superfície, aderência bacteriana.

## EFFECT OF GASTRIC ACID ON THE SURFACE OF BULK-FILL COMPOSITE RESINS

### ABSTRACT

**Aim:** To evaluate, *in vitro*, quantitatively and qualitatively, the effect of gastric acid on surface roughness and bacterial adhesion in *Bulk-Fill* composite resins followed by simulated toothbrushing. **Materials and Methods:** 30 samples of each *Bulk-Fill* composite resin were obtained: G1 (control): Z250; G2: Filtek *Bulk-Fill* (FTK); G3: Tetric N-Ceram *Bulk-Fill* (TTC); G4: Aura *Bulk-Fill* (AUR). The samples were polished after 24 h and immersed in 10 ml of gastric acid for 24 h at 37°C. Following, the samples were submitted to simulated toothbrushing. Ra and Cn were obtained in three different stages: initial (Ra0 and Cn0), after gastric acid (Ra1 and Cn1) and after gastric acid and simulated toothbrushing (Ra2 and Cn2). Additional samples were submitted to the simulated toothbrushing test only and received the same measurements (Ra\* and Cn\*). Two-way ANOVA was used to evaluate Ra, followed by the Tukey test. Regarding the Cn analysis, the Kruskal-Wallis test was used, followed by multiple comparisons. The significance level was of 5%. **Results:** Z250 and FTK had a significant increase in surface roughness in Ra1. In Ra2, the four composite resins did not significantly differ from Ra0, but there was a significant reduction of the means in Ra2 of Z250 and FTK compared to Ra1. For Cn, Z250 and FTK allowed an increased biofilm accumulation in comparison with TTC and AUR. SEM images showed crack formation and exposure of fillers in Ra1, occurring detachment of the exposed fillers. Microcavities were observed in all composite resins in Ra2. Bacterial adhesion occurred in all composite resins regardless of the treatment. There was higher bacterial adhesion in Cn1, followed by reduction of bacterial adhesion in Cn2 for all tested materials, except for AUR. **Conclusion:** Gastric acid increased the surface roughness of Z250 and FTK composite resins, as well as promoted higher bacterial accumulation compared to TTC and AUR composite resins. There was degradation of the surface of all composite resins, as well as bacterial adhesion.

Key-words: gastric acid, composite resins, toothbrushing, surface properties, bacterial adhesion



## 1 INTRODUÇÃO

A erosão ácida é caracterizada pela perda de estrutura dentária mineralizada (esmalte e subseqüentemente dentina) pela ação frequente de agentes ácidos.<sup>1</sup> Ela pode ser de origem extrínseca, quando provém de uma dieta rica em alimentos e/ou bebidas ácidas,<sup>2</sup> ou ainda, de origem intrínseca, resultante da ação de ácidos produzidos pelo organismo humano, através do retorno do ácido gástrico para a cavidade bucal. Nesse caso, o refluxo do ácido gástrico pode ocorrer em doenças como o refluxo gastroesofágico, desordens alimentares ou em gestantes no primeiro trimestre de gravidez.<sup>3</sup>

O refluxo gastroesofágico é definido pelo retorno do ácido gástrico do esôfago para a cavidade oral pelo relaxamento involuntário do esfíncter esofágico superior.<sup>4</sup> O ácido gástrico possui um pH que varia de 1 a 1,5, sendo ainda mais ácido do que é considerado um pH crítico para os tecidos dentários, que seria em torno de 5,5.<sup>5</sup> Assim, esse ácido afeta os tecidos dentários quando em contato na cavidade oral, provocando a desmineralização do esmalte, dentina e cemento radicular.<sup>6,7</sup> Os episódios do refluxo gastroesofágico podem variar, sendo que alimentos como chocolates, café, bebidas alcoólicas e comidas apimentadas aumentam a frequência e a duração dos mesmos.<sup>8</sup>

Outra desordem de origem intrínseca que gera erosão ácida é a bulimia nervosa, desordem comportamental alimentar relacionada à autoindução do vômito após ingestão incontrolada de alimentos. É um comportamento compensatório que busca evitar o ganho de peso.<sup>9</sup> Os vômitos, quando muito frequentes, levam a perda do reflexo da náusea, ao relaxamento do esfíncter esofágico inferior e, em casos muito avançados, podem ser induzidos espontaneamente.<sup>10</sup>

Qualquer outra alteração alimentar ou funcional que permita o retorno do ácido do esôfago para a cavidade oral vai desencadear o processo de erosão ácida.<sup>11</sup> O ácido clorídrico (gástrico) regurgitado na cavidade bucal atinge as superfícies palatinas e oclusais dos dentes superiores e as superfícies oclusais dos dentes inferiores, porém pode haver variações e afetar diferentes áreas dentais. Características clínicas comuns em pacientes com erosão dentária intrínseca são a perda de brilho normal dos dentes, exposição da dentina,

desgaste do dente e do material restaurador.<sup>12</sup> Considerando a extensa literatura sobre erosão dentária e seus fatores extrínsecos,<sup>13</sup> além do aumento da incidência das desordens endógenas descritas acima envolvendo a população em geral,<sup>14</sup> mostra-se relevante discutir os efeitos gerados por alterações intrínsecas.

As resinas compostas, quando comparadas aos materiais restauradores indiretos apresentam a desvantagem de ser suscetível ao acúmulo de placa bacteriana.<sup>15</sup> Essa suscetibilidade favorece a formação de cáries secundárias adjacentes as margens da restauração, além de contribuir para a degradação química e mecânica das restaurações de resina composta.<sup>16</sup> Alguns autores indicam que valores de rugosidade superficial maiores de 0,2  $\mu\text{m}$  nas resinas compostas favorece o acúmulo de biofilme na sua superfície.<sup>17</sup> A adesão bacteriana sobre resinas compostas foi estudada por outros autores, como Montanaro *et al.*<sup>18</sup>, no entanto, o efeito do ácido gástrico na adesão bacteriana à resina composta ainda é pouco conhecido.

Recentes avanços nos materiais restauradores resinosos, e a busca por reduzir etapas e facilitar a prática clínica, resultaram na comercialização de resinas compostas de incremento único, também denominadas resinas compostas "*Bulk-Fill*". Segundo os fabricantes, essas resinas compostas são apropriadas para dentes posteriores, sendo possível restaurar, com incrementos únicos em cavidades de 4 mm a 5 mm de profundidade, eliminando o processo da técnica incremental. Elas apresentam diferenças na composição monomérica em comparação às resinas compostas convencionais, alterações as quais favorece a redução da contração volumétrica, além de não necessitar de maior tempo de fotoativação, o que acaba por reduzir o tempo clínico do procedimento.<sup>19,20</sup>

Existem duas viscosidades de resinas compostas de incremento único: baixa viscosidade (*flow*) e alta viscosidade (consistência regular). As resinas compostas *Bulk-Fill flow* possuem propriedades mecânicas inferiores às resinas compostas de consistência regular, como menor dureza superficial e menor módulo de elasticidade. Assim, sua indicação é para aplicação como base, sendo necessário outro material para recobrimento oclusal que possua maior resistência ao desgaste.<sup>21</sup> Os materiais de alta viscosidade, no entanto, podem

ser recobertos, ou não, por outro material, dependendo de sua capacidade de resistir às forças oclusais.<sup>22</sup> Como o efeito do ácido gástrico atua na superfície do material restaurador, torna-se relevante analisar as resinas compostas *Bulk-Fill* que não precisam de material de cobertura, além de comparar com a resina composta Z250.

Substâncias presentes no meio bucal, como a saliva e ácidos, reduzem as propriedades físicas e mecânicas dos materiais restauradores.<sup>23</sup> Alguns autores mostraram alteração da rugosidade superficial quando uma resina composta micro-híbrida foi submersa em diferentes soluções ácidas, com pH que variavam entre 6,6 e 2,5.<sup>24</sup> Outro estudo observou o efeito do ácido gástrico em resinas laboratoriais, analisando a estabilidade de cor, microdureza e rugosidade superficial.<sup>25</sup>

Ao analisar o efeito do ácido gástrico em resinas compostas micro-híbridas, nanoparticulada e de baixa contração de polimerização, foi observada alteração das propriedades mecânicas e degradação superficial de todos os materiais após a imersão.<sup>26</sup>

Existe a necessidade constante de avaliar novos materiais restauradores, mimetizando condições importantes que ocorrem no meio bucal, como o processo de erosão química, através da ação do ácido gástrico em contato com sua superfície resinosa, além do processo mecânico de abrasão por escovação, comum aos hábitos humanos diários, através da escovação simulada.<sup>27,28</sup>

Sobre este tópico, não foram encontrados estudos na literatura consultada que avaliam as resinas compostas de incremento único frente ao ataque do ácido gástrico. Considerando que esse material está disponível há pouco tempo no mercado odontológico, mostra-se relevante avaliar suas propriedades.

Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar de forma quantitativa e qualitativa a rugosidade superficial e a adesão bacteriana das resinas compostas *Bulk-Fill* frente ao efeito do ácido gástrico seguido de escovação simulada. O estudo partiu da hipótese de que o ácido gástrico seguido de escovação simulada não influencia significativamente na rugosidade superficial e na adesão bacteriana das resinas compostas de incremento único.



## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Materiais

**Quadro 1:** Resinas compostas empregadas no estudo.

Material/ Abreviações usadas no texto	Descrição/ Classificação dos monômeros	Composição química	Fabricante	Partículas de carga (volume %; peso%)	Tamanho das partículas	Cor	Lote
Filtek Z250 XT  (Z250)	Compósito  Micro-híbrida	Partículas de carga: Zircônia/Sílica.  Matriz: TEGDMA Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA	60%  84,5%	0,01 $\mu$ m - 3,50 $\mu$ m  Tamanho médio (0,6 $\mu$ m)	A2	1628100449
Filtek <i>Bulk-Fill</i>  (FTK)	Resina em <i>Bulk</i> de Baixa Contração  Nanoparticulada	Partículas de carga: Zircônia/Sílica; Trifluoreto de Itérbio  Matriz: AUDMA, AFM, DDDMA, UDMA	3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA	58,4%  76,5 %	- Sílica (20nm); - Zircônia (4 a 11 nm); - Trifluoreto de Itérbio (100nm)	A2	1632700708
Tetric N- Ceram <i>Bulk-Fill</i>  (TTC)	Resina em <i>Bulk</i> de Baixa Contração  Nano híbrida	Partículas de carga: Bário/Sílica/Alumínio; Trifluoreto de Itérbio  Matriz: Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA.	Ivoclar Vivadent, Schaan, Lietchtenstein	53 a 55%  75 a 77%	0,04 $\mu$ m - 3 $\mu$ m  Tamanho médio (0,6 $\mu$ m)	IVB	U27917
Aura <i>Bulk-Fill</i>  (AUR)	Resina em <i>Bulk</i> de Baixa Contração  Nano-híbrida	Não informado	SDI Limited, Austrália	Não informado	Não informado	Cor Universal	150931

### 2.2 Método

#### 2.2.1 Obtenção das amostras para avaliação da rugosidade superficial

O estudo foi aprovado pela Comissão Científica da Faculdade de Odontologia da PUCRS. Quinze amostras de cada grupo foram confeccionadas na forma de discos de resina composta com os diferentes materiais avaliados:

G1 (controle) Z250 XT (Z250); G2: Filtek *Bulk-Fil* (FTK); G3: Tetric N-Ceram *Bulk-Fill* (TTC); G4: Aura *Bulk-Fill* (AUR). Uma matriz de silicone com orifícios de 5 mm de diâmetro e 4 mm de altura foi utilizada para auxiliar na confecção das amostras. A matriz foi posicionada sobre uma placa de vidro e os orifícios foram preenchidos com a resina composta. A resina composta Z250 foi inserida na matriz em dois incrementos de aproximadamente 2 mm cada. As resinas compostas *Bulk-Fill* FTK, TTC, AUR foram inseridas em incremento único de 4 mm.

Uma tira de poliéster foi posicionada sobre o último ou único incremento de resina composta seguida de uma placa de vidro, visando obter uma superfície plana. As resinas compostas foram fotoativadas com o aparelho de luz LED Radium-cal (SDI, Vic., Austrália), com intensidade de luz de 1200 mW/cm<sup>2</sup>, a uma distância de 1 mm da superfície da resina composta. Cada incremento da resina composta Z250 e os incrementos únicos das resinas compostas *Bulk-Fill* foram fotoativados por 20 s, de forma perpendicular à superfície a ser avaliada em cada amostra.

### **2.2.2 Polimento das amostras**

Após serem confeccionadas, as superfícies das amostras foram submetidas ao procedimento de acabamento e polimento com discos abrasivos de óxido de alumínio (Sof-Lex Pop On; 3M/ESPE, St. Paul, MN, EUA), usando a sequência média, fina e superfina. Cada disco de óxido de alumínio foi aplicado em uma mesma direção durante 15 s. Um único operador executou a etapa de acabamento e polimento e, para cada amostra, um novo disco de óxido de alumínio foi utilizado. Ao concluir o polimento, as amostras foram levadas à lavadora ultrassônica em água destilada por 10 min, com finalidade de remover os resíduos deixados com o polimento.<sup>29</sup> Os discos foram armazenados em água destilada por 24 h a 37°C em estufa de cultura FANEM.

### **2.2.3 Rugosidade superficial**

Primeiramente foi analisada a rugosidade superficial inicial (Ra0) de cada amostra utilizando o rugosímetro SJ 201 (Mitutoyo, Kawasaki, Japão). Foram realizadas três medições consecutivas, em três diferentes regiões da superfície avaliada de cada amostra (uma central, uma à direita e outra à esquerda), com

*cut-off* de 0,25, sendo obtida a média das três medições. A superfície analisada foi a que recebeu a fotoativação mais próxima.

#### **2.2.4 Ácido gástrico**

Cada amostra ficou imersa em solução de simulação do ácido gástrico por 24 h. A referida solução foi fabricada pela Faculdade de Química da PUCRS, dissolvendo 2.0 g de cloreto de sódio e 3.2 g de pepsina em 7.0 mL de ácido hidrocloreídrico e água para obter 1,000 mL.<sup>30</sup> Após as 24 h, as amostras foram lavadas com água deionizada durante 1 min. Cada amostra foi imersa em 10 mL das soluções acima mencionadas, com base na metodologia aplicada por Valinoti *et al.*<sup>31</sup> Ao finalizar esse processo, as amostras foram submetidas à nova leitura de rugosidade superficial sendo obtido os valores de Ra 1.

#### **2.2.5 Escovação simulada**

Foi realizada em uma máquina desenvolvida pelo Instituto Ideia da PUCRS. Cada amostra foi fixada em um orifício no centro de uma placa acrílica (55 X 25 X 4 mm). Esse orifício central tem o diâmetro da amostra e altura menor que a amostra, permitindo que a superfície a ser avaliada ficasse 1 mm além da borda do orifício. A fixação da amostra no equipamento foi realizada com cera utilidade. Cada placa foi colocada em uma cuba acrílica, a qual foi fixada à máquina de escovação simulada por meio de pinos metálicos. Dentro da cuba foi colocada uma mistura composta de 1 g de pasta por 1 mL de água destilada. A pasta utilizada foi a Colgate Total 12 Professional Gengiva Saudável (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio Ltda., São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e a escova empregada era de cerdas macias. A carga aplicada foi de 200 g e a velocidade de escovação foi de 250 ciclos por minutos, totalizando 10.000 ciclos de escovação simulada, caracterizando um ano de escovação em boca (40 min no equipamento).<sup>22</sup> As escovas foram trocadas a cada quatro amostras escovadas de cada grupo. Após a escovação simulada, foram lavadas em água corrente e imediatamente limpas em lavadora ultrassônica por 10 min, seguida de secagem com jato de ar e nova leitura da rugosidade superficial (Ra2) como descrito para a etapa inicial.

A rugosidade superficial foi medida perpendicular ao sentido de escovação das cerdas das escovas. Para o correto posicionamento da amostra

na máquina de escovação simulada e para garantir a leitura sempre no mesmo sentido (perpendicular à escovação simulada), foi realizada uma marcação com ponta diamantada 1011 (KG Sorensen, SP, Brasil) e caneta de alta rotação com refrigeração na lateral e na base de cada amostra.

#### **2.2.6 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Três amostras adicionais de cada grupo foram confeccionadas para análise em MEV. Em uma amostra de cada grupo foi observada sua rugosidade superficial inicial, em outra amostra a rugosidade superficial foi analisada após o ácido gástrico, e na terceira amostra após ácido gástrico e escovação simulada. Essas amostras foram secas em desumidificadora com gel de sílica durante 72 h, metalizadas com ouro (Balzers, Liechtenstein) e observadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (JSM 6060 LV, JEOL, Tóquio, Japão) em aumento de 20.000 vezes para análise qualitativa da superfície.

#### **2.2.7 Obtenção das amostras para avaliação da adesão bacteriana**

Para análise quantitativa da adesão bacteriana foram confeccionadas amostras em triplicata de cada resina composta empregando a mesma metodologia descrita anteriormente. Os tratamentos avaliados foram: após polimento (Cn0), após ácido gástrico (Cn1), após ácido gástrico e escovação simulada (Cn2) e apenas escovação simulada (Cn\*). Assim, para essa análise, 48 amostras (12 para cada tratamento) foram confeccionadas.

Para análise qualitativa em MEV foram confeccionadas amostras em duplicata de cada resina composta para cada tratamento realizado. Os tratamentos avaliados foram: após polimento (MEV0), após ácido gástrico (MEV1), após escovação simulada (MEV2) e após apenas escovação (MEV\*). No total, foram visualizadas 32 amostras (oito para cada tratamento). A obtenção, polimento, imersão no ácido gástrico e escovação das amostras seguiram o mesmo processo descrito anteriormente.

##### **2.2.7.1 Esterilização das amostras**



As amostras foram esterilizadas com gás de óxido de etileno (ETR Esterilizadora, Porto Alegre, Brasil) buscando eliminação de qualquer microrganismo que pudesse ter aderido à superfície do material nas etapas iniciais do tratamento.<sup>32</sup>

#### **2.2.7.2 Adesão de *Streptococcus mutans***

O *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ATCC 25175 armazenado a -20°C foi cultivado em BHI (*Brain Heart Infusion*) por 24 h à 37°C. Uma alíquota deste cultivo primário foi inoculada em um caldo BHI fresco e incubada por mais 24 h a 37°C. Após, 100 µL deste cultivo, contendo aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC/mL (unidades formadoras de colônias/mL), foram inoculados em 1 mL de caldo BHI suplementado com 1% de sacarose, onde foi colocado o bloco de resina composta a ser avaliado, e incubados por 24 h em microaerofilia a 37°C. Os ensaios foram realizados com cinco réplicas, sendo três destinadas à análise bacteriana quantitativa e duas para a análise bacteriana por MEV.

As resinas compostas foram cuidadosamente removidas do cultivo e lavadas em 1 mL de solução salina a 0,85%, buscando remover as células planctônicas e manter apenas as células aderidas na superfície das resinas compostas, este procedimento foi realizado duas vezes. Após as lavagens, as amostras destinadas à análise qualitativa foram imersas na solução fixadora (glutaraldeído a 2,5%), onde foram mantidas por sete dias. As demais resinas compostas foram levadas ao banho de ultrassom por 10 min, para desagregação do biofilme.

Após a desestruturação do biofilme, a solução salina contendo as células desagregadas foi diluída até 10<sup>-6</sup>. As três primeiras diluições foram semeadas pela técnica da gota e as três últimas pela técnica do espalhamento, ambas em ágar BHI, em triplicata. Essas duas técnicas foram utilizadas levando em consideração as concentrações celulares esperadas em cada diluição. As placas de ágar BHI foram incubadas em estufa à 37 °C por 24 h, seguidas da contagem de UFC/mL. Os ensaios foram adaptados a partir de Nakamura *et al.* e Yoshihara *et al.*<sup>33,34</sup>

### **2.2.7.3 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Após a fixação, as amostras foram lavadas três vezes por 30 min cada em 0,2 mol/L de tampão de fosfato e água destilada na proporção 1:1. Então as amostras foram desidratadas por imersão em etanol 30%, 50%, 70%, 90% e 100%, secas em desumidificador com gel de sílica durante 72 h, metalizadas com ouro (Balzers, Liechtenstein) e observadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (JSM 6060 LV, JEOL, Tóquio, Japão) em aumento de 500 a 2.000 vezes. A análise qualitativa iniciou pelo menor aumento (500x) selecionando áreas com maior concentração de biofilme bacteriano.

Na posse das imagens, um único observador cegado sobre os grupos experimentais classificou-os pela presença de bactérias através de uma classificação de posição. Foi utilizado o programa Power Point (Microsoft Corp, Redmond, EUA), de forma a cada imagem ocupar um slide, que foi transferido para a tela do computador na forma de apresentação. As imagens foram modificadas de posição de acordo com o nível de contaminação encontrada, de modo que a primeira foi a mais contaminada e a última a menos contaminada. Após a classificação por *Ranks*, a posição média do grupo foi calculada.<sup>35</sup>

### **2.3 Análise estatística**

Os resultados de rugosidade superficial foram submetidos ao teste ANOVA de duas vias (material x tratamento), seguido do teste de Tukey. Para análise dos resultados de contagem bacteriana foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas. O nível de significância foi de 5%.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Rugosidade superficial

De acordo com a ANOVA de dois fatores, a condição material ( $p=0,256$ ) não foi significativo, a condição tratamento ( $p=0,01$ ) foi significativo e a interação também foi significativa ( $p=0,013$ ).

Nos materiais Z250 e FTK houve aumento significativo na rugosidade superficial quando submetidas ao ácido gástrico (Ra1), o que não ocorreu nos materiais TTC e AUR (Tabela 1). A rugosidade superficial das quatro resinas compostas após ácido gástrico e escovação simulada (Ra2), apesar de ter um valor numérico superior, não diferiram estatisticamente da rugosidade superficial inicial (Ra0). Diminuição significativa das médias foi observada nas resinas compostas Z250 e FTK em Ra2, quando comparadas a Ra1. As resinas compostas TTC e AUR aumentaram os valores de rugosidade superficial gradativamente nos diferentes momentos, sem diferenças estatisticamente significativas.

As resinas compostas submetidas ao ácido gástrico seguida da escovação simulada (Ra2) tiveram suas médias de rugosidade superficial comparadas com amostras adicionais, as quais receberam, após o mesmo polimento, somente o tratamento abrasivo com escovação simulada (Ra\*). O teste ANOVA de duas vias mostrou que o fator material ( $p=0,796$ ), o fator tratamento ( $p=0,998$ ) e a interação ( $p=0,836$ ) não foram significativos.

**Tabela 1.** Médias e desvios-padrões da rugosidade superficial ( $\mu\text{m}$ ) das resinas compostas após diferentes tratamentos.

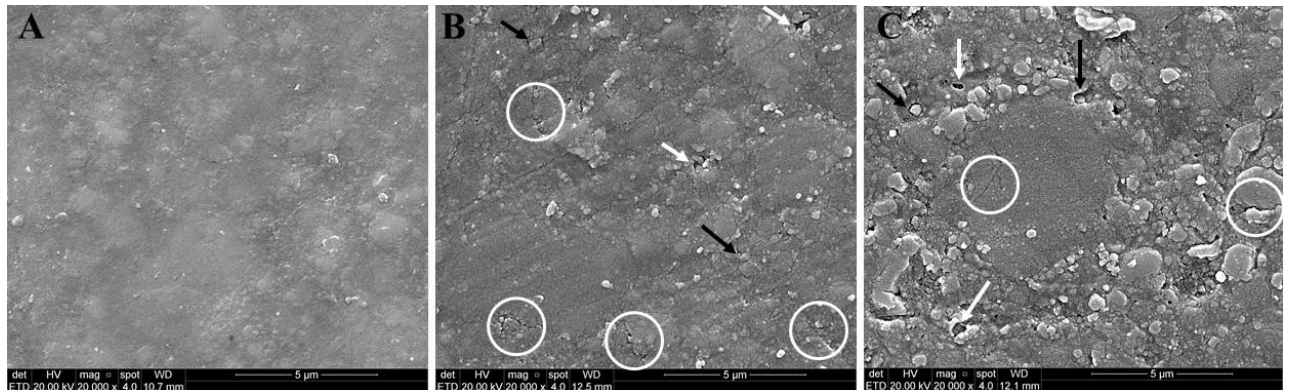
Material	Ra0 Rugosidade Inicial		Ra1 Rugosidade após ácido gástrico		Ra2 Rugosidade após ácido gástrico e escovação simulada	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
<b>Z250</b>	0,18 <sup>aB</sup>	0,084	0,27 <sup>abA</sup>	0,147	0,21 <sup>aB</sup>	0,083
<b>FTK</b>	0,14 <sup>aB</sup>	0,081	0,31 <sup>aA</sup>	0,227	0,18 <sup>aB</sup>	0,092
<b>TTC</b>	0,13 <sup>aA</sup>	0,046	0,16 <sup>bA</sup>	0,111	0,23 <sup>aA</sup>	0,203
<b>AUR</b>	0,15 <sup>aA</sup>	0,066	0,16 <sup>bA</sup>	0,084	0,22 <sup>aA</sup>	0,079

As médias seguidas de mesma letra minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas indicam diferenças não estatisticamente significativas de acordo com o teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

### 3.2 Análise qualitativa da rugosidade superficial em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 1A mostra a superfície polida e íntegra da resina composta Z250, o que se aplica as demais resinas compostas *Bulk-Fill* após polimento (2A, 3A e 4A). Na Figura 1B ocorre a degradação da matriz orgânica, com desenvolvimento de trincas na superfície (círculos brancos), desprendimento das partículas inorgânicas (setas pretas) e formação de microcavidades (setas brancas). Nas Figuras 2B, 3B e 4B o mesmo ocorre, porém em graus diferentes de degradação. As Figuras 1C e 2C demonstram a exposição e desprendimento das partículas de carga na superfície das resinas compostas Z250 e FTK, maior degradação da matriz orgânica e maior número de microcavidades formadas. As Figuras 3C e 4C apresentam as mesmas características das resinas compostas descritas logo acima, porém sem trincas na superfície. Essas trincas também foram visualizadas nas Figuras 1B e C, 2B e C, 3B e 4B. Microcavidades indicam o desprendimento das partículas de carga da superfície da resina composta e podem ser observadas nas Figuras 1B e C, 2C, 3C, 4C. Sombras ao redor de

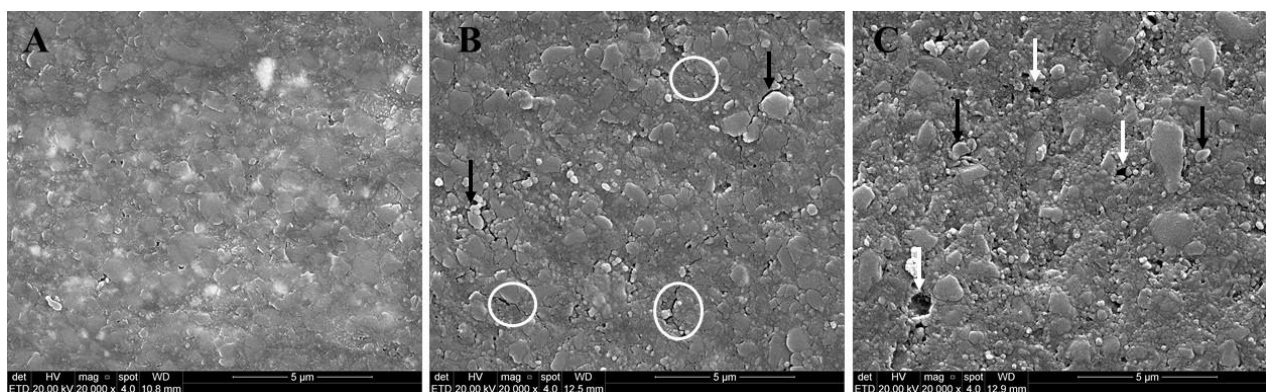
algumas partículas sugerindo que elas estejam soltas da matriz (setas pretas) podem ser observadas nas Figuras 1B e C, 2C, 3B e C, e 4B e C.



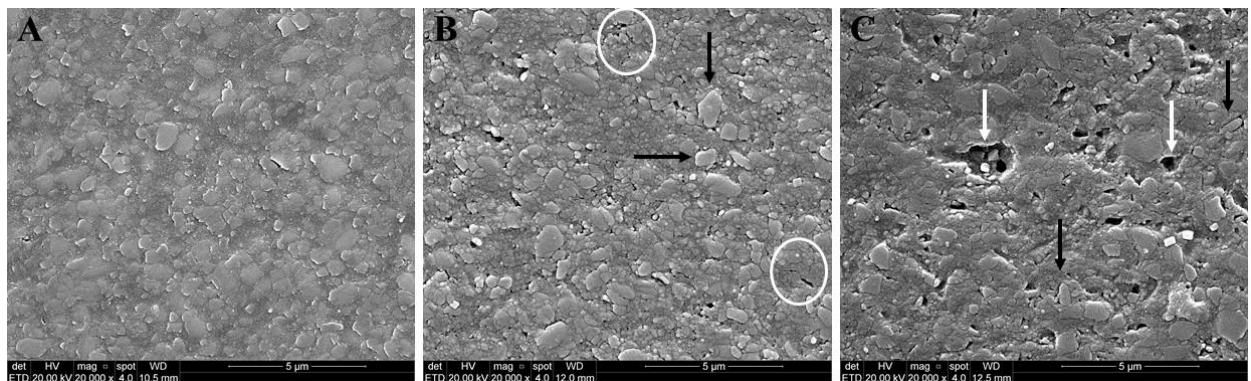
**Figura 1:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta Z250 XT nos três diferentes momentos do tratamento. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada.



**Figura 2:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta de incremento único FTK nos três diferentes momentos de tratamento. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) ácido gástrico e escovação simulada.



**Figura 3:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta de incremento único TTC nos três diferentes momentos do tratamento. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada.



**Figura 4:** Imagens representativas em MEV com aumento de 20.000x da resina composta de incremento único AUR nos três diferentes momentos do tratamento. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada.

### 3.3 Adesão bacteriana

De acordo com a análise de Kruskal-Wallis seguida de comparações múltiplas, a resina composta FTK permitiu maior adesão de *S. mutans* após o polimento (Cn0) em comparação as demais resinas compostas, não diferindo estatisticamente apenas da resina composta Z250. Em Cn0, nas resinas compostas TTC e AUR foi observado um menor valor mediano de contagem bacteriana, diferindo estatisticamente da resina composta FTK. Nos quatro tratamentos avaliados, foi evidenciada menor adesão bacteriana nas resinas compostas TTC e AUR em relação a Z250 e FTK. No entanto essas diferenças numéricas nem sempre significaram diferença estatística.

Na resina composta Z250 foi evidenciado um aumento estatisticamente significativo da contagem bacteriana em Cn2 em relação à contagem inicial (Cn0), não diferindo de Cn1 e Cn\*. Já na resina composta FTK ocorreu redução da contagem bacteriana em Cn2, diferindo estatisticamente de Cn1. Na resina composta AUR foi observada uma redução da contagem bacteriana em Cn2, diferindo estatisticamente de Cn1 e Cn\*. Na resina composta TTC não ocorreu diferença na contagem bacteriana entre os diferentes tratamentos.

**Tabela 2:** Valores medianos de contagem bacteriana ( $10^6$ ) das diferentes resinas compostas nos diferentes tratamentos.

Material	Cn0 Contagem Inicial/ Após polimento	Cn1 Contagem após ácido gástrico	Cn2 Contagem após ácido gástrico e escovação simulada	Cn* Contagem após apenas escovação
	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )	Contagem de bactérias ( $\times 10^6$ )
	Mediana	Mediana	Mediana	Mediana
<b>Z250</b>	7,00 <sup>abA</sup>	16,00 <sup>bcAB</sup>	26,00 <sup>bB</sup>	15,00 <sup>bAB</sup>
<b>FTK</b>	31,60 <sup>bcB</sup>	97,00 <sup>cC</sup>	9,60 <sup>bAB</sup>	1,90 <sup>aA</sup>
<b>TTC</b>	,60 <sup>aA</sup>	1,60 <sup>aA</sup>	2,40 <sup>abA</sup>	2,40 <sup>aA</sup>
<b>AUR</b>	2,00 <sup>abA</sup>	3,60 <sup>abB</sup>	,33 <sup>aA</sup>	6,60 <sup>abB</sup>

Medianas seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem significativamente pelo teste de comparações múltiplas.

### 3.4 Análise qualitativa da adesão bacteriana em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 5A demonstrou a adesão bacteriana na superfície após o polimento da resina composta do grupo controle, com bactérias dispersas pela amostra (setas brancas), além da formação de aglomerados de bactérias (setas pretas). Já na Figura 5B foi possível observar maior adesão bacteriana do que em 5A, formação de múltiplos aglomerados após a ação do ácido gástrico. Após ácido gástrico e escovação simulada (Figura 5C) ocorreu redução da adesão bacteriana sobre a resina composta micro-híbrida, comparando com as Figuras 5A e B. A Figura 5D mostrou aumento da adesão bacteriana quando comparada com a Figura 5C, porém tanto em 5C como em 5D não ocorreu formação de aglomerados.

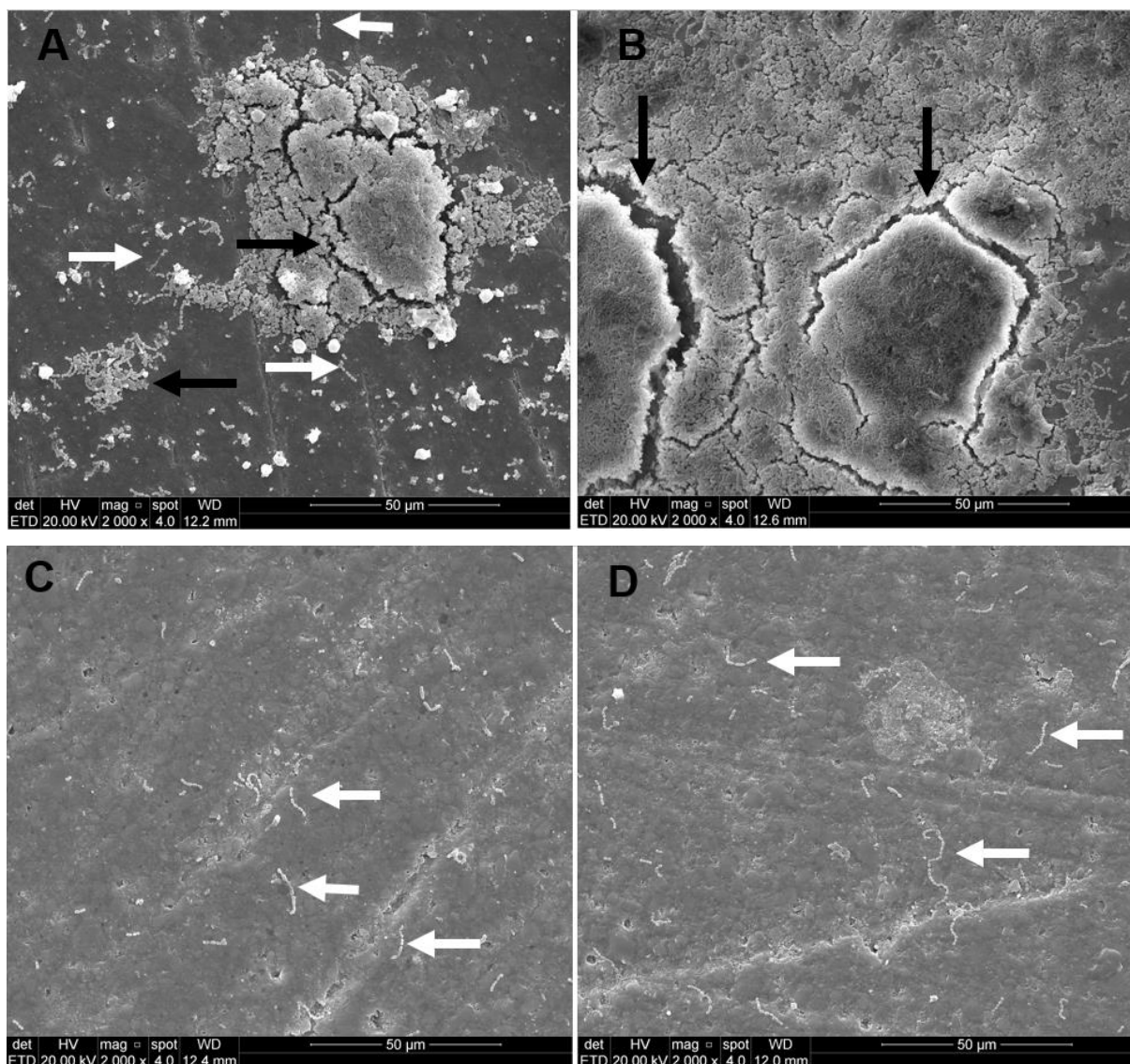
A resina composta FTK, na Figura 6A, evidenciou adesão bacteriana à superfície após o polimento de forma dispersa, sem formação de aglomerados

bacterianos. Já a Figura 6B mostrou um aumento exponencial da adesão bacteriana após o ácido gástrico, com aglomerações sobre toda a superfície da amostra. Ao passar pela escovação simulada (Figura 6C), foi possível notar a redução da adesão bacteriana em comparação à Figura 6B, com apenas algumas bactérias dispersas na amostra. A Figura 6D evidenciou adesão bacteriana de alguns *S. mutans* sobre a superfície após apenas a escovação simulada.

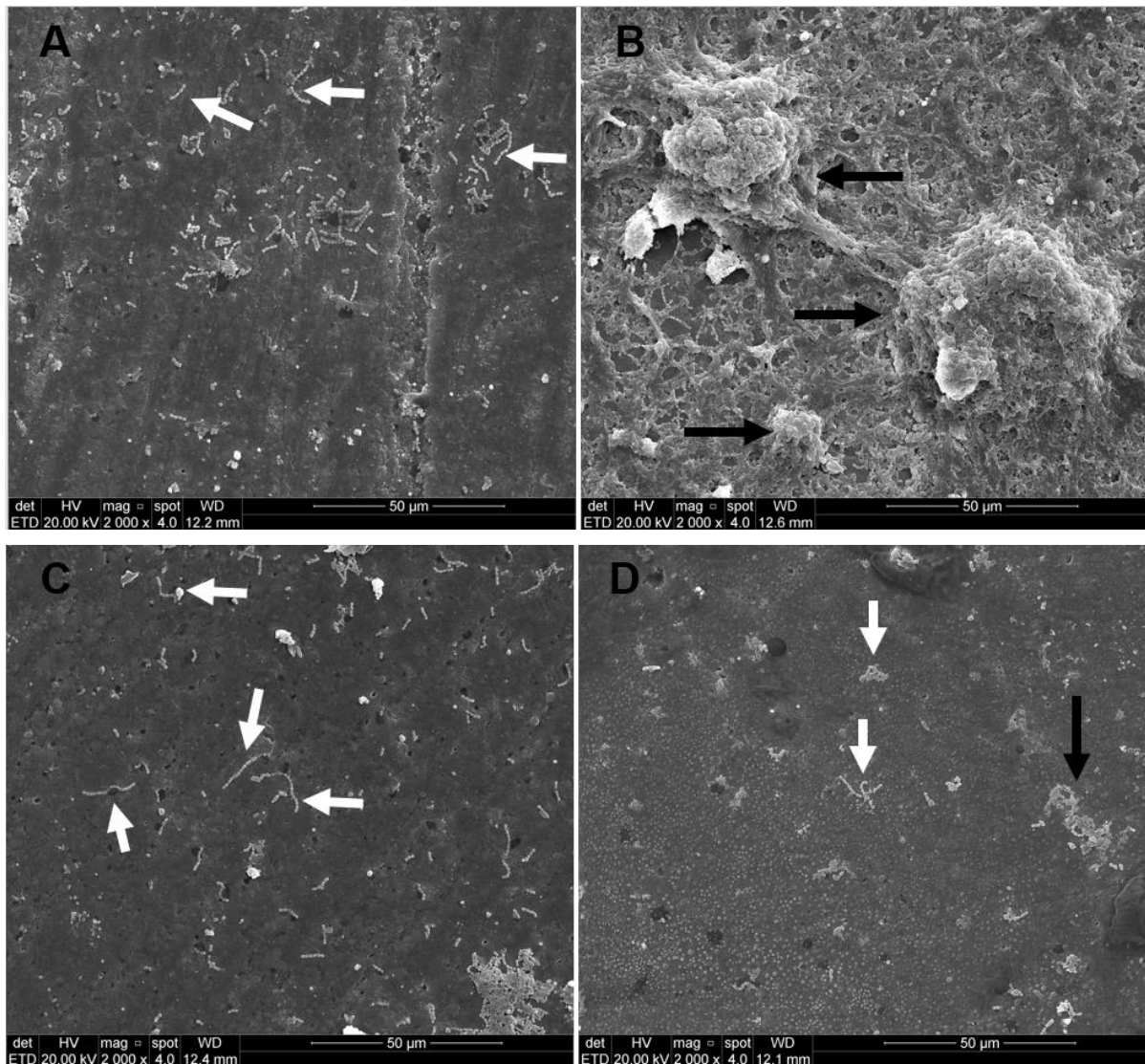
A Figura 7A evidenciou a adesão de *S. mutans* dispersos sobre a superfície da resina composta TTC, com formação de aglomerados. A Figura 7B mostrou o recobrimento da amostra com agregados de *S. mutans* após a imersão em ácido gástrico. Em 7C houve redução da adesão bacteriana quando comparada com 7B, porém múltiplas bactérias estão aderidas à amostra, não ocorrendo formação de aglomerações sobre essa superfície. Após apenas escovação (Figura 7D) houve adesão bacteriana com formação de pequeno aglomerado de *S. mutans*.

As Figuras 8A e 8B mostraram adesão bacteriana semelhante na superfície da resina composta AUR. Em 8B ocorreu formação de trinca (círculo branco) na superfície do material. Houve formação de aglomerados após a imersão no ácido gástrico seguida de escovação simulada (Figura 8C), assim como bactérias dispersas em todas as superfícies. O mesmo foi observado em 8D.

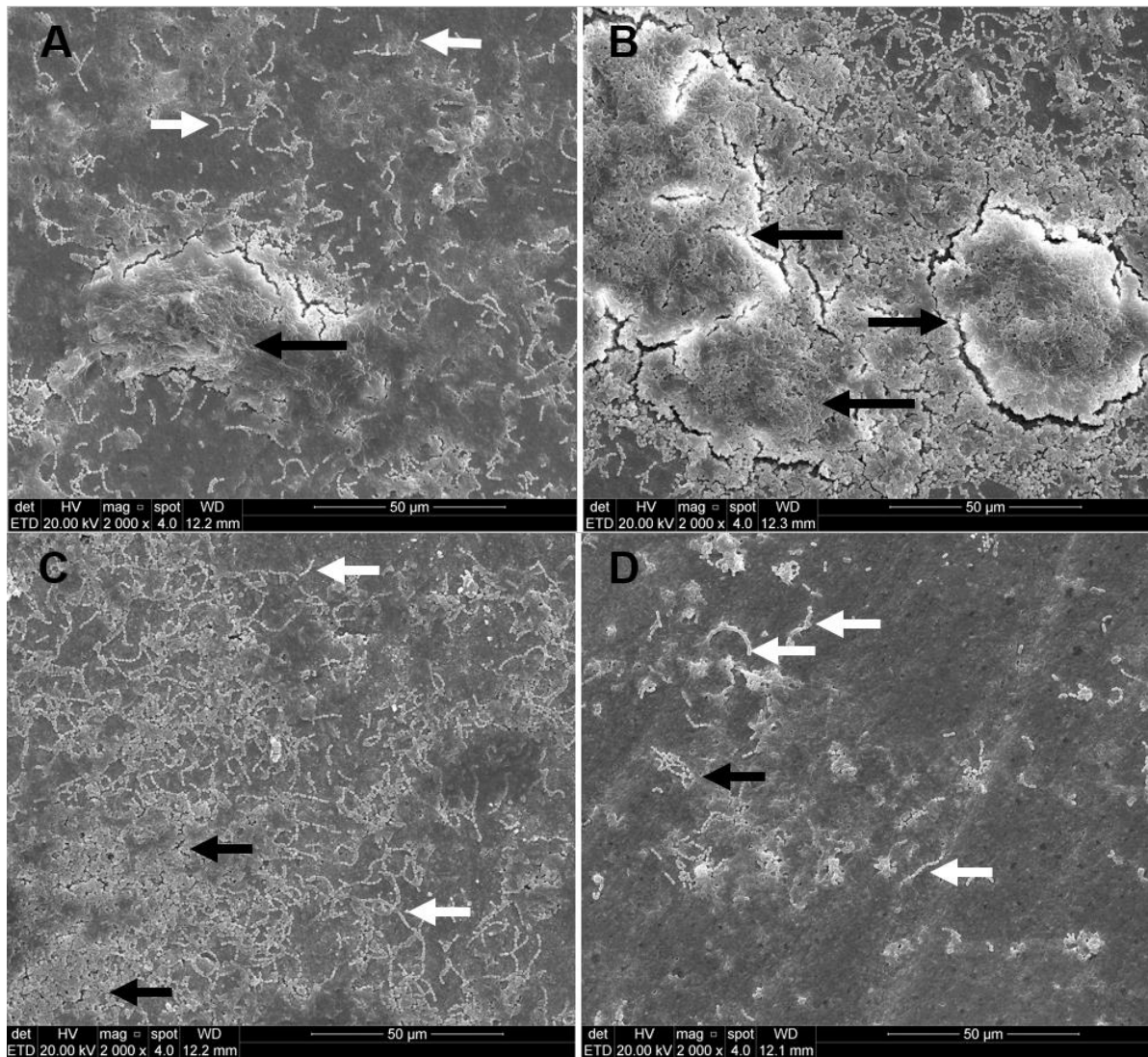




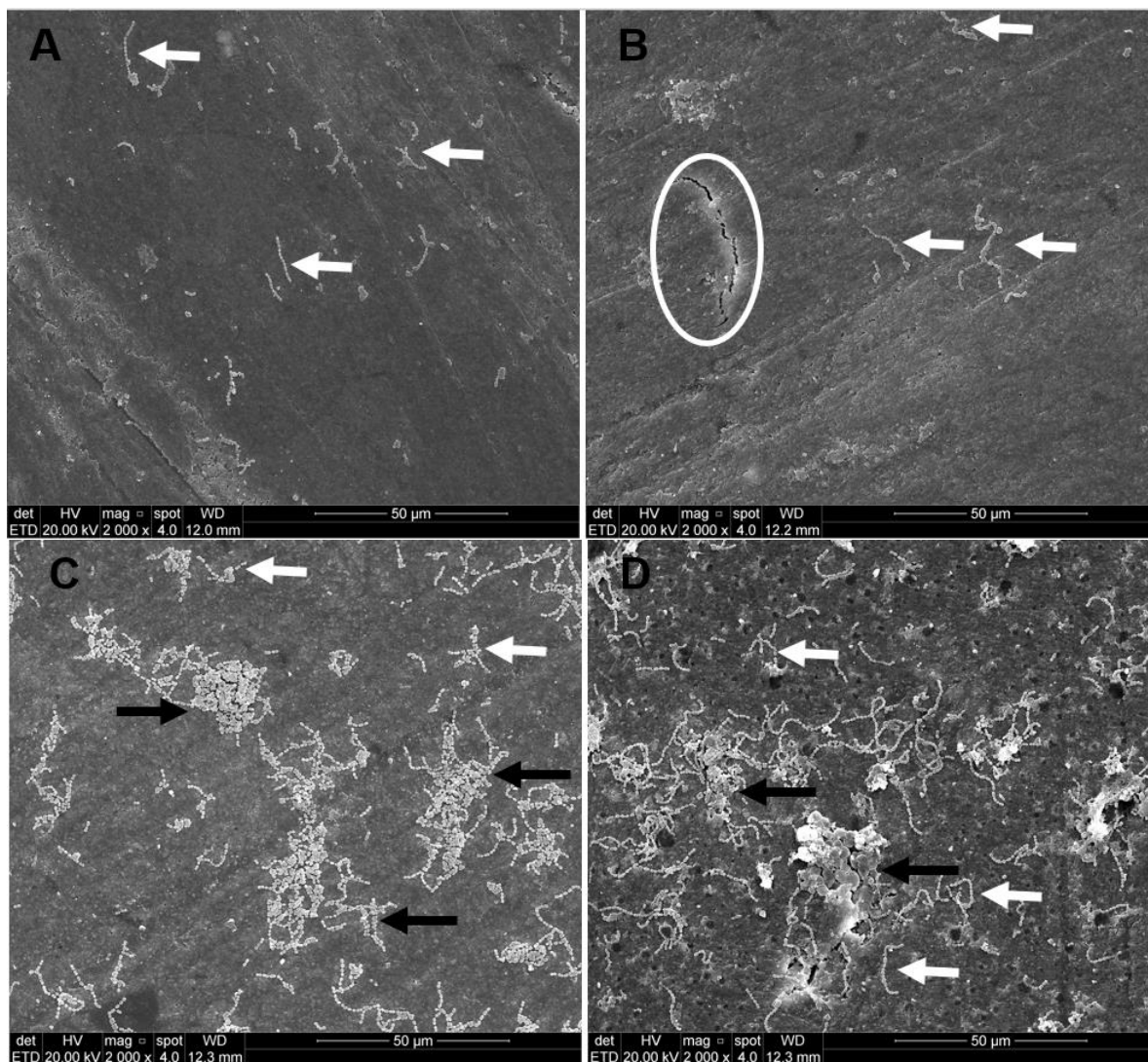
**Figura 5:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta Z250 XT nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.



**Figura 6:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta de incremento único FTK nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.



**Figura 7:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta de incremento único TTC nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.



**Figura 8:** Imagens representativas em MEV da adesão bacteriana com aumento de 2.000x da resina composta de incremento único AUR nos quatro diferentes tratamentos de superfície. A) após polimento, B) após ácido gástrico, C) após ácido gástrico e escovação simulada, D) após apenas escovação simulada.

## 4 DISCUSSÃO

No presente estudo, a rugosidade superficial das resinas compostas avaliadas após o ácido gástrico seguido de escovação simulada não diferiu significativamente da rugosidade superficial inicial. Portanto, a hipótese foi aceita.

O ácido gástrico afetou a rugosidade superficial de duas resinas compostas (Z250 e FTK) de forma significativa, o que concordou com outro estudo que avaliou diferentes resinas compostas em soluções ácidas.<sup>23</sup> O aumento da rugosidade superficial de um material está diretamente relacionado ao desgaste de sua superfície.<sup>36,27</sup> Existem mecanismos relacionados à ocorrência do desgaste das resinas compostas como: (A) o desgaste da matriz resinosa; (B) perda de partículas de carga por falha na união com a matriz resinosa; (C) perda de carga através do cisalhamento de partículas expostas; (D) perda de carga por trincas da matriz; (E) exposição de bolhas de ar inerentes ao processo restaurador.<sup>37</sup> O aumento da rugosidade superficial após o ácido gástrico (Ra1) nas resinas compostas Z250 e FTK pode estar associado à degradação de suas matrizes poliméricas em contato com o pH ácido da solução. O baixo pH pode ter afetado a matriz resinosa pela catalisação dos grupos éster dos monômeros dimetacrilatos, favorecendo a hidrólise desses grupos e formação de moléculas de ácido carboxílico e álcool, as quais aceleraram a degradação da resina composta.<sup>38</sup>

Alguns autores observaram que outros fatores, além do pH, podem influenciar na rugosidade superficial dos materiais,<sup>24</sup> como a maior absorção de água da solução ácida dependendo da composição da matriz resinosa e da qualidade de união entre matriz e partículas de carga.<sup>23</sup> A extensa absorção de água pode levar à expansão e lixiviação dos monômeros, favorecendo a formação de trincas. Além disso, a maior absorção pode gerar degradação hidrolítica do agente silano, que favorece o desprendimento das partículas de carga da matriz resinosa e, conseqüentemente, formação de microcavidades.<sup>39</sup>

A alteração da rugosidade superficial dos materiais pode também estar relacionada ao tipo, tamanho, distribuição e quantidade de partículas de carga na composição das resinas compostas.<sup>40</sup> As resinas compostas Z250 e FTK

apresentam partículas de sílica e zircônia na composição, diferente das demais resinas compostas avaliadas. A resina composta FTK é nanoparticulada, ao contrário das demais que são resinas compostas micro-híbridas ou nano-híbridas. Alguns autores supõem que partículas menores são menos suscetíveis ao desgaste, já que diminuem o espaço interpartículas e promovem maior proteção da matriz orgânica, reduzindo assim seu desgaste da superfície.<sup>40</sup> O fato da resina composta FTK possuir menor tamanho de partícula em comparação às demais resinas compostas avaliadas, pode ter influenciado nos menores valores de rugosidade superficial após a ação do ácido gástrico seguida de escovação simulada em comparação com rugosidade superficial após o ácido gástrico (Ra1). Já a menor rugosidade superficial da resina composta Z250 após a ação do ácido gástrico seguida de escovação simulada, quando comparada a Ra1, concordou com outro estudo. Os autores encontraram resultados semelhantes sobre a maior resistência ao desgaste da Z250, sendo essa evidência relacionada pelos autores ao seu conteúdo inorgânico à base de sílica e zircônia (partículas de carga também presente na FTK), já que essas apresentam maior dureza e mostram-se mais resistentes ao desgaste por abrasão do que as demais resinas compostas avaliadas.<sup>41</sup>

Além disso, as resinas compostas Z250 e FTK apresentaram valores de Ra1 superiores a 0,2  $\mu\text{m}$ , sendo os mesmos encontrados em Ra2 para as resinas compostas Z250, TTC e AUR. Valores iguais ou superiores a 0,2  $\mu\text{m}$  favorecem o acúmulo de placa bacteriana na superfície do material restaurador.<sup>17</sup> As trincas e microcavidades observadas nas figuras estão presentes na interface matriz/carga e oportunizam a adesão microbiana.<sup>42</sup> O acúmulo de placa bacteriana na superfície da resina composta facilita a degradação do material pelo baixo pH do biofilme,<sup>24</sup> além de auxiliar a formação de cárie secundária, principal fator responsável pela falha em restauração de resinas compostas.<sup>43</sup>

As figuras de MEV evidenciaram nítida modificação da topografia superficial das resinas compostas. As figuras que mostraram a superfície das amostras submetidas apenas à escovação simulada (Ra\*) não foram acrescentadas na análise, pois não houve diferença estatística entre Ra2 e Ra\*. As figuras de MEV concordam com os diferentes valores de rugosidade superficial das resinas compostas avaliadas. A presença de microcavidades foi

analisada por outros autores que avaliaram resinas compostas nano particuladas e híbridas em contato com soluções de baixo pH.<sup>44</sup> As trincas visualizadas no presente estudo também foram detectadas por outros autores.<sup>45</sup> Para eles, as trincas provêm do aumento da pressão osmótica na interface matriz/partículas de carga e conseqüente degradação hidrolítica do material.<sup>45</sup> Portanto, sugere-se que a solução de ácido gástrico provocou trincas na superfície das resinas compostas devido à absorção de água das soluções pela matriz resinosa. O desprendimento das partículas de carga da matriz resinosa observadas após solução ácida nas resinas compostas Z250, TTC e AUR condizem com as explicações acima sobre degradação hidrolítica. Ainda que em menor quantidade, essas partículas soltas aparecem nas figuras após escovação simulada, pois mesmo com o processo abrasivo algumas ainda permaneceram na superfície. Outras, no entanto, foram removidas, o que levou a observação de microcavidades.

Um estudo *in vitro* deixou imersos dentes humanos em contato com soluções ácidas por 24 h. O efeito erosivo produzido foi visualmente similar ao observado clinicamente.<sup>46</sup> Outros autores analisaram por 24 h o efeito do ácido gástrico e discutiram o fato das amostras não estarem em contato com saliva nesse período, como geralmente ocorre no meio bucal. Assim, essa exposição por 24 h do ácido gástrico caracteriza o pior cenário de casos de erosão ácida,<sup>25</sup> com exposição semelhante a oito anos em boca.<sup>47</sup>

A esterilização das amostras em autoclave não foi possível já que esse processo modifica as propriedades das resinas compostas. Tendo em vista que o óxido de etileno é um gás, ele é menos agressivo ao material. No entanto, já existem estudos que comprovam seu efeito esterelizante sobre as resinas compostas.<sup>48</sup>

Para contagem bacteriana, as resinas compostas de incremento único (FTK, TTC e AUR), após o ácido gástrico seguido de escovação simulada, não diferiram significativamente da contagem bacteriana inicial. Portanto, a hipótese foi aceita.

Uma restauração de resina composta, preferencialmente, deve ter baixa suscetibilidade à adesão bacteriana. Bollen,*et al.*<sup>17</sup> descreveram quatro fases

necessárias para a adesão bacteriana: 1) transporte de bactérias para a superfície; 2) adesão inicial; 3) conexões por interações específicas e 4) colonização para formação de biofilme. Na segunda e terceira fases ocorre interação das bactérias com a superfície por forças atrativas de van der Waal e forças repulsivas eletrostáticas. Quando a superfície se apresenta rugosa, as bactérias conseguem se proteger nas irregularidades contra forças de cisalhamento. Além disso, ao se protegerem, os microrganismos são favorecidos com tempo suficiente para adesão à superfície. Tendo em vista essas considerações, a rugosidade superficial e a energia livre de superfície são fatores fundamentais que influenciam a adesão bacteriana.<sup>17</sup>

Um maior número de bactérias foi recuperado das resinas compostas Z250 e FTK após ácido gástrico (Cn1) em comparação com as demais resinas compostas avaliadas. A maior adesão bacteriana nessas resinas compostas após ação do ácido gástrico pode ser explicado pela característica acidófila do *S. mutans* e sua afinidade em se aderir às superfícies ácidas,<sup>49</sup> além da capacidade do pH ácido da solução de promover alterações na superfície, deixando o material restaurador irregular, aumentando a energia livre de superfície e tornando-o favorável à adesão bacteriana. Concordando com o relato acima, os dados qualitativos de adesão bacteriana demonstram maior afinidade do *S. mutans* à superfície após ácido gástrico das resinas compostas Z250, FTK e TTC (Figuras 5B, 6B e 7B).

A resina composta AUR foi a única que não mostrou adesão bacteriana significativa nas imagens em MEV após ácido gástrico (Figura 8B). Nessa figura foi possível notar trinca na superfície do material, a qual pode ser justificada pela degradação da matriz orgânica pelo processo de absorção de água desse material em contato com o líquido das soluções. Essa trinca favorece a adesão bacteriana, já que proporciona alteração na rugosidade superficial e meio propício para crescimento bacteriano.<sup>42</sup> Ainda, essa resina composta mostrou aumento da contagem bacteriana em Cn\* em comparação aos demais tratamentos, o que pode estar relacionado não com o tamanho da partícula de carga ou rugosidade superficial desse material, mas sim com a energia livre de superfície ou até o tipo de partícula, informações que não são disponibilizadas



pelo fabricante, mas que já foram descritas como influentes na adesão bacteriana à superfície.<sup>50</sup>

A resina composta Z250 evidenciou aumento significativo da adesão bacteriana após ácido gástrico e escovação (Cn2), não diferindo significativamente de Cn1 e Cn\*. A maior adesão bacteriana à superfície em Cn2, processo que envolve escovação simulada, pode ser explicada pelo aumento da rugosidade superficial do material resinoso quando submetida à abrasão por escovação simulada e conseqüente maior adesão bacteriana ao substrato poroso, o qual se apresentou com maior energia de superfície. Ao considerar que a taxa de desgaste dos materiais resinosos está associada ao tamanho das partículas de carga, ao tipo de partículas, distribuição e ainda quantidade da mesma,<sup>40</sup> as resinas compostas *Bulk-Fill* avaliadas, por apresentam partículas nanométricas em comparação à Z250 (resina composta micro-híbrida) podem apresentar vantagens quanto ao desgaste de superfície, de forma a evidenciem menor desgaste e, conseqüentemente redução dos valores de rugosidade superficial quando submetidas a processos abrasivos.

Em contrapartida, houve redução significativa da adesão bacteriana da resina composta FTK em tratamentos que incluíram escovação simulada (Cn2 e em Cn\*), se comparada a Cn1. O mesmo resultado foi observado nas imagens em MEV, para todas as resinas compostas, exceto a resina composta *Bulk-Fill* AUR. Considerando a presença de dentifício fluoretado no processo de escovação simulada, foi possível justificar a redução da adesão bacteriana pelo efeito do fluoreto de sódio sobre *S. mutans*.<sup>51</sup> O Triclosan a 0,3% pode ter sido outro componente do dentifício que influenciou na menor adesão bacteriana. Esse componente possui amplo espectro de ação antimicrobiana, prevenindo a síntese de proteínas quando em concentrações bacteriostáticas, e desorganizando a membrana citoplasmática da bactéria, extravasando seu conteúdo intracelular quando em concentrações bacteriostáticas.<sup>52</sup> Em baixas concentrações (0,2 a 0,5%), afeta o metabolismo de algumas espécies bacterianas, como o *S. mutans*, podendo ter influenciado na menor adesão bacteriana na superfície desses materiais restauradores.<sup>53</sup>

## 5 CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo, foi possível concluir:

- O ácido gástrico aumentou a rugosidade superficial das resinas compostas Z250 e FTK, não afetando as resinas compostas TTC e AUR. A rugosidade superficial das quatro resinas compostas após ácido gástrico e escovação simulada não diferiram estatisticamente da rugosidade superficial inicial.

- A adesão bacteriana ocorreu em todas as resinas compostas, independente do tratamento. As resinas compostas Z250 e FTK permitiram maior adesão de *S. mutans* em relação às resinas compostas TTC e AUR.

- A topografia de superfície de todas as resinas compostas ficou alterada frente aos diferentes tratamentos, ocorrendo formação de trincas após ácido gástrico e presença de microcavidades após escovação simulada.

- Após ácido gástrico, a análise qualitativa evidenciou maior adesão bacteriana em Z250, FTK e TTC, ocorrendo redução na adesão bacteriana após escovação simulada.

## 6 REFERÊNCIAS

1. Gugmore CR, Rock WP. The prevalence of tooth erosion in 12-year old children. *Br Dent J* 2004; 196:279-82.
2. Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int* 2016; 47(4): 275-8.
3. Al-Salehi. Restorative management of intrinsic and extrinsic dental erosion. *J Indian Prosthodont Soc* 2014; 14(1): 215-21.
4. Bartlett DW, Evans DF, Smith BG. Oral regurgitation after reflux provoking meals: a possible cause of dental erosion? *J Oral Rehabil* 1997; 24: 102-8.
5. Scheutzel P. Etiology of dental erosion – intrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 178-90.
6. Moazzez R, Bartlett DW, Anggiansah A. Dental erosion, gastroesophageal reflux disease and saliva: how are they related? *J Dent Res* 2004; 32:489-94.
7. Holbrook WP, Furuholm J, Gudmundsson K, Theodors A, Meurman JH. Gastric refluxis a significant causative factor of tooth erosion. *J Dent Res* 2009; 88:422-26.
8. Meining A, Cassen M. The role of diet and lifestyle measures in the pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *The Amer J of Gastr* 2000; 95:2692-97.
9. Traebert J, Moreira EAM. Transtornos alimentares de ordem comportamental e seus efeitos sobre a saúde bucal na adolescência. *Pesqui Odontol Bras* 2001; 15(4): 359-63.
10. Assumpção CL, Cabral MD. Complicações clínicas da anorexia nervosa e bulimia nervosa. *Rev Bras Psiquiatr* 2002; 24(3): 29-33.
11. Antunes KT, do Amaral CF, Balbinot CEA. Nervous anorexia and nervous bulimia: mouth complications and the role of the dentist regarding eating disorders. *Disc. Scientia* 2007; 8(1): 159-67.
12. Baratieri LN, *et al.* *Odontologia Restauradora: fundamentos e possibilidades.* São Paulo: Santos, 2001.
13. Li H, Zou Y, Ding G. Dietary Factors Associated with Dental Erosion: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2012; 7(8): 42626.

14. De Souza CVA, Maia KD, Passos M, Weyne SC, Tuñas IC. Dental erosion caused by intrinsic acids. *Rev Bras Odontol* 2010; 67(1): 28-33.
15. De Fúcio SBP, Puppini-Rontani RM, De Carvalho FG, De Mattos-Graner RO, Correr-Sobrinho L, Garcia-Godoy F. Analyses of biofilmes accumulated on dental restorative materials. *Am J Dent* 2009; 22:131-36.
16. Beyth N, Yudovin-Fearber I, Domb AJ, Weiss EI. Long-term antibacterial surface properties of composite resin incorporating polyethyleneimine nanoparticles. *Quintessence Int* 2010; 41: 827-35.
17. 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.
18. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, Arciola CR. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomaterials* 2004; 25(18): 4457-63.
19. Walter R. Critical appraisal: bulk-fill flowable composite resins. *J Esthet Restor Dent* 2013; 25(1):72-6.
20. Fronza BM, Ruggenberg FA, Braga RR, *et al.* Monomer conversion, microhardness, internal marginal adaptation, and shrinkage stress of bulk-fill resin composites. *Dent Mater* 2015; 31(12):1542-51.
21. Llie N, Butuca S, Draenert D. Bulk-fill resin-based composites: an in vitro assessment of their mechanical performance. *Oper Dent* 2013; 38(6): 618-25.
22. Turssi CP, Magalhães CS, Serra MC, Rodrigues AL. Surface roughness assessment of resin-based materials during brushing preceded by ph-cycling simulation. *Oper Dent* 2001; 26: 576-84.
23. Rahim TNAT, Mohamad D, Akil HM. Water sorption characteristics of restorative dental composites immersed in acidic drinks. *Dent Mater* 2012; 28: 63-70.
24. Münchow EA, Ferreira ACA, Machado RMM, Ramos TS, Rodrigues-Junior AS, Zanchi CH. Effect of acid solution on the surface degradation of a micro-hybrid composite resin. *Braz Dent J* 2014; 25(4):321-26.

25. Cengiz S, Sarac S, Özcan M. Effects of simulated gastric juice on color stability, surface roughness and microhardness of laboratory-processed composites. *Dent Mater J* 2014; 33(3):343-48.
26. Zaki DYI, Hamzawy EMA, Halim SAE, Amer MA. Effect of Simulated Gastric Juice on Surface Characteristics of Direct Esthetic Restorations. *Aust. J. Basic & Appl. Sci* 2012; 6(3): 686-94.
27. Ferreira ACF, *et al.* Influência da escovação mecânica na manutenção do acabamento com resinas fluidas sobre compósitos odontológicos. *Rev Paulist de Odont* 2002; 30(7): 18-22.
28. De Oliveira GU. Avaliação do desgaste e da alteração da rugosidade superficial em resinas compostas de diferentes características submetidas à escovação simulada e ciclagem de pH [dissertação]. São Paulo. Universidade de São Paulo; 2011.
29. Carvalho FG, Sampaio CS, Fucio SBP, Carlo HL, Correr- Sobrinho L, Puppim-Rontani RM. Effect of chemical and mechanical degradation on surface roughness of three glass ionomers and nanofilled resin composite. *Oper Dent* 2012; 37(5): 509-17.
30. The United States Pharmacopeial Convention. The United States Pharmacopeia. The national formulary. Supplement. Simulated Gastric Fluid. 1995; 2053.
31. Valinoti AC, Neves BG, Silva EM, Maia LC. Surface degradation of composite resins by acidic medicines and pH-cycling. *J Appl Oral Sci* 2008; 16(4): 257-65.
32. Morgental RD, Vier FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *IntEndod J* 2011; 44(12):1128-33.
33. Nakamura K, Shirato M, Kanno T, Lingström P, Örtengren U, Niwano Y. Photo-irradiated caffeic acid exhibits antimicrobial activity against *Streptococcus mutans* biofilms via hydroxyl radical formation. *Sci Rep* 2017; 7(1):6353
34. Yoshihara K, Nagaoka N, Maruo Y, Sano H, Yoshida Y, Van Meerbeek B. Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler. *Dent Mater* 2017; 33(6): 723-34.

35. Gründling GL, Zechin JG, Jardim WM, de Oliveira SD, de Figueiredo JA. Effect of ultrasonics on *Enterococcus faecalis* biofilm in a bovine tooth model. *J Endod* 2011; 37(8):1128-33.
36. Mondelli RFL, Azevedo JFDG, Fracisconi PAS, Ishikiriama SK, Mondelli J. Wear and surface roughness of bovine enamel submitted to bleaching. *The Eur J Esthet Dent* 2009; 4(4): 396-403.
37. O'Brien WJ, Yee J Jr. Microstructure of posterior restorations of composite resin after clinical wear. *Oper Dent* 1980; 5(3): 90-4.
38. Gopferich A. Mechanisms of polymer degradation and imersion. *Biomater* 1996; 17(2): 103-14.
39. Lepri CP, Ribeiro MVM, Dibb A, Palma-Dibb RG. Influence of mounthrinsse solutions on the color stability and microhardness of a composite resin. *The Intern J of Esthet Dent* 2014; 9: 238-46.
40. The Dental Advisor. Resina composta em posteriores. *Dois Córregos* 1994; 1(1) 5.
41. Burgess J, Cakir D. Comparative properties of low shrinkage composite resins. *Compend Cont Educ Dent* 2010; 31(2): 10-5.
42. Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent Mater* 2009; 25(2):269-75.
43. Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dent Mater* 2015; 31(11):247-77.
44. Almeida GS, Poskus LT, Guimarães JGA, Silva EM. The Effect of Mouthrinses on Salivary Sorption, Solubility and Surface Degradation of a Nanofilled and a Hybrid Resin Composite. *Oper Dent* 2010; 35:105-11.
45. Söderholm KJ, *et al.* Hidrolytic degradation of dental composites. *J of Dent Res* 1984; 1248-54.
46. Hunt D, McIntyre JM. The development of an "in vitro" model of dental erosion. *J Dent Res* 1992; 71:986.
47. Backer AD, Munchow EA, Eckert GJ, Hara AT, Platt JA, Bottino MC. Effect of simulated gastric juice on CAD/CAM resin composites: Morphological and mechanical evaluations. *J Prosthodont*, 2017; 26(5): 424-8.

48. Ahmed M, Punshon G, Darby Shire A and Seifalian AM. Effects of sterilization treatments on bulk and surface properties of nanocomposite biomaterials. *J Biomed Mater Res* 2013; 101(B):1182–90.
49. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(4): 499–515.
50. Yuan C, Wang X, Gao X, Chen F, Liang X, Li D. Effects of surface properties of polymer-based restorative materials on early adhesion of *Streptococcus mutans in vitro*. *J of Dent* 2016; (54): 33-40.
51. Evans A, Leishman SJ, Walsh LJ, Seow WK. Inhibitory effects of children's toothpastes on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus acidophilus*. *Eur Arch Paediatr Dent* 2015; 16 (2): 219-26.
52. Volpe AR, *et al.* Revisão dos estudos de eficácia clínica contra placa e Gengivite com um dentifrício contendo triclosan e PVM/MA. *J Clin Dent* 1993; (7).
53. Davies RM, Ellwood RP, Davies GM. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2004;31(12):1029-33



# SIPESQ

Sistema de Pesquisas da  
PUCRS

---

Código SIPESQ: 7920

Porto Alegre, 3 de maio de 2017.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa "Efeito das variações do pH na superfície de resinas compostas de incremento único".

Atenciosamente,

Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA





Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Pró-Reitoria de Graduação  
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar  
Porto Alegre - RS - Brasil  
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564  
E-mail: [prograd@pucrs.br](mailto:prograd@pucrs.br)  
Site: [www.pucrs.br](http://www.pucrs.br)