

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**EFEITO DA COLONIZAÇÃO DE *Streptococcus mutans* NAS PROPRIEDADES FÍSICAS DE
DIFERENTES CIMENTOS ODONTOLÓGICOS**

Veruska Lima Moura Brasil

SAPIENTIA AEDIFICAT

2014

VERUSKA LIMA MOURA BRASIL

**EFEITO DA COLONIZAÇÃO DE *Streptococcus mutans* NAS
PROPRIEDADES FÍSICAS DE DIFERENTES CIMENTOS
ODONTOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Odontologia Preventiva e Infantil.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Lemes Carlo

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo

João Pessoa

2014

VERUSKA LIMA MOURA BRASIL

**EFEITO DA COLONIZAÇÃO DE *Streptococcus mutans* NAS
PROPRIEDADES FÍSICAS DE DIFERENTES CIMENTOS
ODONTOLÓGICOS**

Prof. Dr. Hugo Lemes Carlo

Orientador - UFPB

Profa. Dra. Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo

Coorientadora - UFPB

Profa. Dra. Regina Maria Puppim Rontani

Examinadora – UNICAMP

Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

Examinador – UFPB

Dedico este trabalho à Deus e à minha família, meus queridos pais, minhas amadas irmãs, minhas lindas sobrinhas e meu amado namorado.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela onipresença, luz e conforto não apenas ao longo destes anos de mestrado, mas durante toda a minha existência.

Aos meus pais, Renê e Altaí, cujos exemplos de persistência, honestidade e retidão serviram de guia na construção de quem sou. Minha eterna gratidão por terem me mostrado o imensurável valor da educação.

Às minhas irmãs, Viviane e Vanessa, pela presença que, apesar de comedida, foi o bastante para assegurar apoio quando quer que eu precisasse.

Às minhas sobrinhas, Marcela e Malu, que potencializam as alegrias e representam a manifestação da mais nobre pureza que elimina todos os males.

Ao meu namorado, Wagner, pelo companheirismo, carinho e dedicação ao longo destes anos. Seu apoio nas minhas escolhas e compreensão nos momentos de angústia que tão mais saudável tornou esta caminhada foram essenciais para a conquista deste momento.

Ao meu querido professor e orientador Hugo Lemes, pela acolhida, paciência, amizade e confiança. Alguém cuja nobreza do ensinar vai além dos muros acadêmicos e cuja dedicação à docência indubitavelmente servirá de exemplo para minha carreira.

À minha querida professora e coorientadora Fabíola Galbiatti, cuja amizade, respeito e colaboração foram fundamentais para a realização deste e de outros trabalhos. Ao abraçar a docência tão verdadeiramente, você inspirou minha constante busca por aperfeiçoamento.

À Tiago João e Alice Helena, meus amigos, agora não mais de graduação, mas sim de vida, por compartilharem tantas experiências e angústias de maneira única. Vocês, que se fizeram tão presentes muito embora distantes fisicamente, sentiram comigo os pesares e alegrias da escolha desta carreira. Pelo incentivo constante e ombro amigo acolhedor, meu muito obrigada.

À minha amiga-madrinha-irmã Aenne Tavares, pelo companheirismo de toda uma vida, pela acolhida sempre tão carinhosa e por me fazer sentir parte da sua família. Saiba que sua amizade é um presente de Deus em minha vida.

À equipe do Laboratório de Biologia Bucal, em especial ao Professor Fábio Sampaio e ao querido Allan Reis, pela viabilização de parte deste estudo com estrutura física e orientações esclarecedoras, bem como pela possibilidade de trabalhar em um ambiente de respeito e descontração.

Ao Professor Rodrigo Othávio e à Amanda Dal Piva pela disponibilidade em colaborar com a realização deste estudo.

À equipe do Laboratório de Solidificação Rápida, em especial ao Professor Severino Jackson e ao querido Bruno Guedes, pela intensa colaboração na realização deste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo subsídio para a realização deste curso de mestrado.

À todos aqueles que disponibilizaram tempo para a realização deste estudo.

Com vocês, compartilho a felicidade de finalizar este trabalho e a gratidão por completar esta etapa. Serei eternamente grata.

“Seja forte e corajoso! Não fique desanimado, nem tenha medo, porque eu, o Senhor, seu Deus, estarei com você em qualquer lugar para onde você for”.

Josué 1:9

RESUMO

Os materiais odontológicos devem suportar a exposição às várias substâncias presentes na cavidade bucal, sendo este um importante requisito para seu desempenho clínico. Este estudo avaliou, *in vitro*, o efeito da colonização bacteriana por *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre propriedades físicas de diferentes cimentos odontológicos. Foram confeccionadas amostras cilíndricas (4 mm x 2 mm) a partir de cinco diferentes cimentos: ionômero de vidro (Ketac Cem – 3M/ ESPE), fosfato de zinco (Cimento de Zinco – SS White), resinoso com polimerização dual (RelyX ARC – 3M/ESPE), resino fotopolimerizável (RelyX Veneer – 3M/ESPE) e resinoso auto-adesivo com polimerização dual (RelyX U200 – 3M/ESPE). As amostras foram divididas em grupos experimentais segundo o tratamento experimental ao qual foram submetidos: G1 – Controle (n=10): 100% de umidade relativa durante 24h; G2 – BHI (n=10): imersão em BHI + 1% sacarose durante 30 dias; G3 – BHI + *S. mutans* (n=30): imersão em BHI + 1% sacarose, por 30 dias, após formação de biofilme de *S. mutans* na superfície. As amostras foram avaliadas através de análises de rugosidade superficial, microdureza Vickers, tração diametral e microscopia óptica. Os dados obtidos foram analisados utilizando-se os testes de ANOVA e Tukey-Krammer ($\alpha=0,05$). O cimento de ionômero de vidro apresentou aumento significativo dos valores de rugosidade superficial após armazenamento em BHI e BHI + *S. mutans*. Os cimentos resinosos não apresentaram alteração significativa. Quanto à microdureza superficial, observou-se diferença estatística significativa entre as amostras do grupo BHI + *S. mutans* e os demais grupos para todos os materiais testados. Não foi possível determinar a rugosidade e a microdureza superficial dos espécimes do cimento de fosfato de zinco pertencentes aos grupos BHI e BHI + *S. mutans*. Com relação ao teste de tração diametral, os cimentos de ionômero de vidro e fosfato de zinco apresentaram alteração significativa nos resultados dos grupos BHI e BHI + *S. mutans*, não sendo observado o mesmo para os demais materiais. As imagens de microscopia óptica permitiram a observação de alterações na superfície dos materiais não resinosos nos diferentes meios de armazenamento, enquanto que os materiais resinosos não apresentaram qualquer alteração. Com base nos resultados obtidos é possível concluir que nenhum dos materiais testados foi capaz de se manter inalterado na presença do biofilme de *Streptococcus mutans*, e que os efeitos provocados pelo biofilme foram material-dependente.

Palavras-chave: *Streptococcus mutans*, Cimentos dentários, Propriedades físicas.

ABSTRACT

Dental materials must withstand the exposure to the several substances in the oral cavity, which is an important requirement for their clinical performance. This study evaluated, *in vitro*, the effect of *Streptococcus mutans* bacterial colonization, for thirty days, on physical properties of dental cements. Cylindrical specimens (4 mmx 2 mm) were prepared from five different cements: glass ionomer cement (Ketac Cem – 3M/ ESPE), zinc phosphate (Cimento de Zinco – SS White), resinous with dual cure polymerization (RelyX ARC – 3M/ESPE), resinous with light cure (RelyX Veneer – 3M/ESPE) and self-adhesive resinous with dual cure (RelyX U200 – 3M/ESPE). Samples were divided into experimental groups according to experimental design: G1 – Control (n=10): 100% of relative humidity for 24h; G2 – BHI (n=10): immersion in BHI + 1% sucrose for 30 days; G3 – BHI + *S. mutans* (n=30): immersion in BHI + 1% sucrose, for 30 days, after *S. mutans* biofilm adherence on the surfaces of the disks. Samples were analyzed using surface roughness, Vickers microhardness, diametral tensile strength and optical microscopy. Data collected were analyzed using ANOVA and Tukey-Krammer tests ($\alpha = 0.05$). Glass ionomer cement presented a significant increase in surface roughness values after storage in BHI and BHI + *S. mutans*. Resin cements showed no significant difference. Regarding microhardness, it was observed statistically significant difference between samples of BHI + *S. mutans* group and the other groups of all tested materials. It was not possible to determine roughness and microhardness of zinc phosphate cement specimens of BHI and BHI + *S. mutans*. With respect to the diametral tensile test, glass ionomer and zinc phosphate cements showed a significant change in the results of groups BHI and BHI + *S. mutans*, while the same was not observed for the other materials. Optical microscopy images showed alterations in the surface of the non-resinous materials, while resinous materials did not show any change. Based on the results, it can be concluded that none of the materials tested remained unaffected by *Streptococcus mutans* biofilm, and that the effects were material-dependent.

Keywords: *Streptococcus mutans*, Dental cements, Physical properties.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
Bis-GMA	Bisfenol-a glicidil metacrilato
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CO ₂	Dióxido de carbono
D	Diâmetro
<i>et al.</i>	e colaborador(es)
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
g	Grama
G	Grupo amostral
h	Horas
ISO	International Organization for Standardization
kN	Quilonewton
L	Largura
LED	Diodo Emissor de Luz
MPa	Megapascal
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mW/cm ²	Miliwatts por centímetro quadrado
n	Número de elementos amostrais
nm	Nanômetro
No	Número
NPG-GMA	N-fenilglicina e glicidil metacrilato
PAE	Película Adquirida do Esmalte
pH	Potencial Hidrogeniônico
Ra	Rugosidade Média
s	Segundo
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
TD	Tração Diametral
TEGDMA	Trietilenoglicol dimetacrilato

UFC	Unidade Formadora de Colônias
UR	Umidade Relativa
VHN	Número de Dureza Vickers
$\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Ortofosfato de zinco tetra hidratado
α	Nível de significância
°C	Graus Celsius
π	Pi
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
%	Porcentagem
4-META	4-metacriloxietil-trimetilato anidrido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
2	REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1	A doença cárie e o papel do <i>Streptococcus mutans</i>	03
2.2	Cimentos odontológicos	06
2.3	Efeito da colonização bacteriana sobre os cimentos odontológicos	10
3	OBJETIVOS	14
3.1	Objetivo geral	14
3.2	Objetivos específicos	14
4	MATERIAL E MÉTODO	15
4.1	Materiais	15
4.2	Confecção das amostras	15
4.3	Grupos amostrais	17
4.4	Cepas microbianas	18
4.5	Desenvolvimento do biofilme	19
4.6	Teste de rugosidade superficial	20
4.7	Teste de microdureza superficial	21
4.8	Teste de tração diametral	
4.9	Análise da superfície dos materiais	22
4.10	Análise estatística	23
5	RESULTADOS	24
6	DISCUSSÃO	35
7	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

O biofilme dental está relacionado com a progressão das doenças cárie e periodontal e a degradação da superfície dos materiais restauradores (HAMADA; SLADE, 1980; FÚCIO et al., 2008; PAULA et al., 2011). A colonização inicial das superfícies dentárias é realizada por *Streptococos* dos grupos sanguinis, oralis e mitis, que correspondem a 56% dos micro-organismos presentes no biofilme inicial (LI et al., 2004), o qual inicialmente é considerado saudável. No entanto, havendo sucessão microbiana provocada por mudanças bioquímicas, o biofilme torna-se cariogênico. Dentre os micro-organismos presentes neste biofilme, os *Streptococcus mutans*, encontram-se primariamente relacionados com maior incidência da lesão de cárie (CURY; VÁSQUEZ-CCAHUANA, 2010). O mesmo apresenta alta virulência devida, principalmente, à alta capacidade adesiva às estruturas dentais e às restaurações, e às propriedades ácidas de acidogenicidade – capacidade de produzir ácido – e aciduricidade – capacidade de sobreviver em pH ácido (HAMADA; SLADE, 1980; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1994).

O tratamento restaurador, quando indicado em um plano de tratamento integral, assume aspecto importantíssimo na reabilitação do paciente, devendo ser parte integrante do programa de controle da doença, seguindo os princípios e as características de cada material restaurador, preservando ao máximo a estrutura dental sadia e restabelecendo o aspecto funcional e estético do elemento dentário (HILLS, 1986; AAPD, 2008-2009). As indicações para a realização do tratamento relacionam-se com a probabilidade de haver lesão significativa em esmalte/dentina. Se houver evidência de cárie envolvendo tais estruturas, uma intervenção operatória poderá ser indicada, devendo se observar a atividade e a extensão da lesão. A forma de realização da restauração classifica o procedimento em direto, quando o material restaurador é inserido diretamente no preparo cavitário, ou indireto, quando é preparado fora da boca e posicionado no elemento dentário juntamente com um agente de cimentação (HILL, 2007). Em procedimentos indiretos, o uso do agente de cimentação fundamenta-se na necessidade de preencher o espaço existente entre o preparo e a peça a ser fixada, evitando o deslocamento da mesma durante a função mastigatória (HILL, 2007). A escolha de tal agente deve ser feita considerando as necessidades específicas de cada

situação clínica (CRA, 2004), sendo que os mais utilizados são aqueles à base de resina e ionômero de vidro (HILL; LOTT, 2011).

A capacidade dos materiais de resistirem às forças mastigatórias e às mais variadas substâncias presentes na cavidade bucal é um importante requisito para o seu desempenho clínico (FÚCIO et al., 2008). Alguns estudos (ASMUSSEN, 1984; FÚCIO et al., 2008; TURSSI et al., 2002; YAP et al., 2000; YAP et al., 2005) têm demonstrado a existência de danos causados aos materiais pelo ambiente químico da boca. Fundamentalmente, os fatores que causam esses efeitos deletérios incluem o pH da região, decorrente dos micro-organismos do biofilme (FORSS et al., 1991; WILLERSHAUSEN et al., 1999), o consumo de alimentos e bebidas ácidas (BADRA et al., 2005; YAP et al., 2000; YAP et al., 2005) e a ação de enzimas (FINER; SANTERRE, 2004), que podem alterar as camadas periféricas e comprometer as propriedades físicas dos materiais (PAPADOGIANNIS et al., 2011). Comumente, a interface de união entre o elemento dentário e a restauração indireta propicia acúmulo de biofilme (FEJERSKOV; KIDD; BENTE, 2008). Neste sentido, sendo a película de cimentação o elo mais frágil desta união, investigar os efeitos do biofilme dental sobre as propriedades dos cimentos apresenta sua importância.

Observa-se, pela análise da literatura, que a ação do biofilme sobre materiais restauradores foi avaliada (MONTANARO et al., 2004; BEYTH et al., 2008; BUERGERS et al., 2009; BARBOSA et al., 2012). Os achados existentes demonstram que os produtos do metabolismo bacteriano exercem efeitos negativos sobre a rugosidade superficial (FUCIO et al., 2008), sobre a microdureza de superfície (FUCIO et al., 2008; DE MENEZES et al., 2011) e sobre a topografia superficial desta classe de materiais (DE MENEZES et al., 2011). Entretanto, poucos estudos investigaram tal relação com os cimentos odontológicos (FÚCIO et al., 2008; DE MENEZES et al., 2011).

Deste modo, o objetivo do presente estudo foi o de avaliar os possíveis efeitos dos produtos do metabolismo bacteriano de um biofilme de *Streptococcus mutans* sobre determinadas propriedades físicas de diferentes cimentos odontológicos. Os testes realizados foram os de rugosidade superficial média, microdureza de superfície (Vickers) e resistência à compressão por tração diametral, além da obtenção de imagens da superfície dos materiais através de microscopia óptica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – A cárie e o papel do *Streptococcus mutans*

O termo cárie dentária descreve os resultados da dissolução química da superfície dentária causada pelos eventos metabólicos do biofilme presente na área afetada. A destruição pode afetar o esmalte, a dentina e o cemento, e as lesões podem se manifestar de variadas formas (FEJERSKOV; KIDD; BENTE, 2008).

Após a irrupção do elemento dentário na cavidade bucal, um filme orgânico, livre de bactérias, passa a revestir as superfícies dentárias. Esta película recebe o nome de película adquirida do esmalte (PAE), cuja composição é baseada em lipídeos e, principalmente, proteínas (MARSH, 2003; HANNIG; HANNIG; ATTIN, 2005; HANNIG; JOINER, 2006). No estabelecimento da PAE, ocorre a formação de uma camada de hidratação com cargas irregularmente distribuídas oriundas da interação entre a superfície do esmalte, negativamente carregada com íons fosfato, e a cobertura, positivamente carregada de íons cálcio. Em virtude da presença desta camada de hidratação, interações eletrostáticas promovem adsorção de proteínas salivares à superfície do esmalte, ocasionando a atração de macromoléculas de proteínas carregadas (HANNIG; JOINER, 2006).

Sobre a PAE, é formado o biofilme dental, o qual se trata de uma comunidade microbiológica envolvida por uma matriz extracelular (FEJERSKOV, 2004; CURY; VÁSQUEZ-CCAHUANA, 2010). Para que os micro-organismos promovam colonização sobre a superfície dentária, é necessário que eles estejam aderidos a ela. Tal interação se dá por meio de interações eletrostáticas não específicas e forças de van der Waals, caracterizadas por serem de fraca intensidade e, portanto, reversíveis, e interações específicas entre as bactérias e as proteínas presentes na PAE, interações estas normalmente irreversíveis (LENANDER-LUMIKARU; LOIMARANTA, 2000; MARSH; MARTIN, 2005). Em um estágio subsequente, ocorre a co-agregação de micro-organismos às células já ligadas, resultando em aumento na diversidade da microflora. Uma vez que as bactérias tenham se ligado, então poderá ocorrer o crescimento e a formação de microcolônias. Nesta fase, bactérias aderentes sintetizam polímeros extracelulares (glucanos solúveis e insolúveis, frutanos e heteropolímeros), os quais contribuem

para a integridade estrutural da placa. Pode, ainda, haver descolamento de células do biofilme na fase planctônica, facilitando a colonização de locais novos (MARSH; MARTIN, 2005).

Mediante situações como o alto consumo de carboidratos, o biofilme dental pode passar por mudanças de caráter bioquímico e, conseqüentemente, sucessão microbiana, favorecendo o crescimento do número de espécies patogênicas. Tal processo transforma o biofilme, antes saudável, em cariogênico (FEJERSKOV, 2004; CURY; VÁSQUEZ-CCAHUANA, 2010).

O início da cárie relaciona-se principalmente com os micro-organismos *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Actinomyces viscosus*, que são considerados os principais espécimes patogênicos (SHIVAKUMAR; VIDYA; CHANDU, 2009). No entanto, são as bactérias da espécie *Streptococcus mutans* que são tidas como as mais cariogênicas do biofilme, uma vez que são dotadas da capacidade de metabolização rápida dos açúcares provenientes da dieta, situação esta que cria um ambiente de pH reduzido e promove maior competição entre os micro-organismos (MARSH, 2003; CURY; VÁSQUEZ-CCAHUANA, 2010). O *Streptococcus mutans* exerce um importante papel na iniciação e na progressão das lesões cariosas, ao passo que o *Lactobacillus* atua apenas na sua progressão (TANZER; LIVINGSTON; THOMPSON, 2001).

O *Streptococcus mutans* apresenta alto potencial de cariogenicidade em virtude de algumas características marcantes. Esta espécie apresenta grande capacidade de colonizar superfícies não descamativas, como a estrutura dentária e materiais restauradores (FLÓRIO et al., 2004). O *S. mutans* é capaz de armazenar carboidratos na forma de polissacarídeos extracelulares, os quais contribuem para a formação de um biofilme espesso (JOHANSSON; BIRKHED, 1995), bem como polissacarídeos intracelulares, usados em momentos de baixa oferta de carboidratos no meio (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1994). Além disso, tal micro-organismo apresenta capacidade acidúrica, isto é, sobrevive em pH ácido, e acidogênica, sendo capaz de produzir ácido láctico, responsável pela desmineralização no início do desenvolvimento da cárie (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1994).

Em condições fisiológicas há supersaturação de cálcio e fosfato nos fluidos orais, com contínua deposição ou redeposição destes na superfície do esmalte. No entanto, quando da metabolização do açúcar em ácido (em especial a sacarose) pelo biofilme cariogênico, ocorre a produção de ácidos (principalmente o ácido láctico), redução do pH e insaturação do fluido do biofilme com consequente desmineralização. Mediante a alta disponibilidade de carboidratos, estes são armazenados sob a forma de polissacarídeos intra e extracelulares, sendo estes últimos importantes na adesão bacteriana (JOHANSSON; BIRKHED, 1995; ten CATE, 2004; CURY; TENUTA, 2008). Diante do cessar da metabolização do açúcar e normalização do pH, ocorre restabelecimento da supersaturação com certo ganho de mineral perdido (ganho esse inferior à perda). O esmalte dentário e a dentina sofrem dissolução com pH igual ou menor a 5,5 e 6,5, respectivamente (LLENA-PUY, 2006). Contínuas repetições de perda mineral acabam por ultrapassar a capacidade dos fluidos orais de reparar tal perda. Deste modo, a doença começa a manifestar-se através de lesões de mancha branca, que resultam do aumento da porosidade e perda de translucidez do esmalte, seguidas por processos de cavitação (ten CATE, 2004; CURY; TENUTA, 2008; FEJERSKOV; KIDD; BENTE, 2008).

O entendimento da dinâmica de desmineralização/remineralização permite compreender a cárie como uma doença crônica resultante de uma complexa interação de diversos fatores determinantes e modificadores do seu processo de desenvolvimento que acontece na presença de carboidratos fermentáveis e bactérias (FEJERSKOV, 2004). O tempo é um aspecto relevante para a progressão da cárie, que tem caráter de doença dieta dependente baseada na produção de ácidos por bactérias, promovendo dissolução e destruição localizada do tecido calcificado (SHIVAKUMAR; VIDYA; CHANDU, 2009).

A lesão provocada pela cárie pode atingir uma grande extensão da estrutura dentária. Em casos como esse, o tratamento restaurador pode demandar a realização de preparos cavitários de tamanha amplitude que acabam por se tornar um procedimento desgastante tanto para o profissional como para o paciente, principalmente quando se trata de um paciente pediátrico. Somam-se a isso as dificuldades existentes na reconstrução da estrutura perdida e no manejo da

criança mediante a realização de um procedimento em um tempo clínico prolongado (UPDYKE; SNEED, 2001).

Nesse sentido, as restaurações indiretas constituem-se como uma alternativa bastante viável para o tratamento de lesões cariosas extensas. Técnicas como *inlays*, *onlays*, *overlays* e coroas totais são exemplos desta alternativa, que dispõe de resinas compostas, ligas metálicas e cerâmicas como materiais utilizados no procedimento (CONCEIÇÃO, 2007).

2.2 – Cimentos odontológicos

O cimento odontológico é o material utilizado para fixar uma restauração indireta, seja ela definitiva ou provisória, ao preparo cavitário (HILL, 2007; HILL; LOTT, 2011), impedindo seu deslocamento durante a função e funcionando como um elo entre a restauração e o tecido de suporte (ROSENSTIEL; LAND; CRISPIN, 1998; HILL; LOTT, 2011). O agente de cimentação também deve ser usado como uma barreira contra infiltração bacteriana, conferindo selamento à interface dente-restauração e mantendo-os unidos por meio de alguma forma de fixação, a qual pode ser micromecânica (hibridização do tecido), mecânica (atrito), química ou uma combinação de métodos, a depender da natureza do cimento e do substrato (DIAZ-ARNOLD; VARGAS; HASELTON, 1999; PEGORARO; SILVA; CARVALHO, 2007).

Microscopicamente, a região de interface apresenta superfícies rugosas que são preenchidas pelo cimento, cuja camada deve resistir às tensões de cisalhamento atuando ao longo da interface. Esta descrição se refere à retenção mecânica, a qual pode ser insuficiente para garantir a retenção ideal. Assim, a união química como forma de retenção é objetivo final, já que, teoricamente, este tipo de união é capaz de resistir à separação da interface. Cimentos em cuja composição pode ser encontrado o ácido poliacrílico (cimentos aquosos), o N-fenilglicina e glicidil metacrilato (NPG-GMA), fosfatos polimerizáveis e 4-metacriloxiutil-trimetilato anidrido (4-META) (cimentos resinosos) apresentam certa capacidade de estabelecer união química com a estrutura dental (ANUSAVICE, 2005).

A eleição do agente cimentante deve ser norteadas pelas necessidades específicas da situação clínica e pela sua capacidade de proporcionar resistência à fratura, vedamento marginal e boa retenção (CRA, 2004; HILL, 2007). Para um desempenho ideal, é requerido do cimento que ele seja biocompatível com os tecidos, apresente tempo de trabalho satisfatório, seja suficientemente fluido para promover o correto assentamento da restauração, forme uma massa com rigidez necessária para resistir às cargas mecânicas, não seja facilmente solubilizado e mantenha o vedamento marginal (HILL, 2007). Propriedades estéticas também representam um aspecto significativo dos agentes de cimentação, principalmente quando se trata de restaurações anteriores, dado o crescente uso de restauração indiretas confeccionadas com materiais altamente estéticos e com pouca espessura (ROSENSTIEL; LAND; CRISPIN, 1998). Em regiões de margens visíveis esse aspecto ganha relevância ainda maior e, nesse quesito, os agentes cimentantes a base de resina são superiores aos demais tipos de cimentos em virtude de sua translucidez e multiplicidade de cores (DE LA MACORRA; PRADÍES, 2002). Entretanto, não há no mercado nenhum cimento considerado ideal para todas as situações (PEGORARO; SILVA; CARVALHO, 2007).

A espessura da película de cimentação deve ser respeitada para que o mínimo do material seja exposto aos fluidos orais e para minimizar qualquer tensão de contração de polimerização sofrida pelo cimento (DE LA MACORRA; PRADÍES, 2002). Segundo a ISO (International Organization for Standardization), a espessura da película no momento da cimentação deve ser de até 25 μm para os cimentos não-resinosos (ISO 9917-1:2007) e de até 50 μm para os cimentos resinosos (ISO No. 4049:2000).

Para que possam tomar presa, os cimentos odontológicos passam por reações químicas, as quais podem ter início de três diferentes formas. Na primeira delas, os componentes do material são misturados e, ao entrarem em contato, a reação química ocorre, o que é denominado inapropriadamente de cura química. A segunda maneira envolve a ativação de moléculas fotossensíveis por meio de luz visível, enquanto que o terceiro método ocorre através de uma combinação das duas formas anteriores, caracterizando a chamada dupla ativação. O tipo de ativação é algo relevante para os clínicos, uma vez que esse aspecto exerce

grande influência sobre o procedimento de cimentação no que diz respeito ao acesso e ao controle do material (DE LA MACORRA; PRADÍES, 2002).

Os cimentos não resinosos são, em sua maioria, encontrados na forma de pó e líquido com reação de presa do tipo ácido-base, sendo que o líquido atua como o ácido e o pó como base (HILL, 2007). Considerado o mais antigo agente cimentante, o fosfato de zinco é encontrado nas formas de pó e líquido. O pó é constituído de óxido de zinco, com aproximadamente 10% de óxido de magnésio e pigmentos, enquanto o líquido contém ácido ortofosfórico concentrado, contendo 40% de água, 2,5% de fosfato de alumínio e, em alguns casos, 5% de fosfato de zinco. A ionização do ácido é controlada pelo conteúdo de água e, dessa forma, a velocidade da reação é sensível à sua presença. A reação do óxido de zinco com ácido fosfórico tem como produto o fosfato de zinco amorfo. Este se liga ao óxido de zinco não reagido, bem como aos outros componentes do cimento. O cimento endurecido consiste-se em uma estrutura segregada de partículas residuais de óxido de zinco em uma matriz de fosfato (GARONE NETO; BURGER, 2009). O cimento de fosfato de zinco apresenta retenção mecânica, e graças ao seu longo tempo de uso clínico é tido como padrão para outros cimentos (HILL, 2007). Em contrapartida, pode provocar irritação pulpar, é altamente solúvel em meio oral e não é dotado de ação antibacteriana (PEGORARO; SILVA; CARVALHO, 2007). O pH deste material é inicialmente baixo, após a manipulação, mas atinge a neutralidade em cerca de 48 horas (HILL, 2007).

Ionômero de vidro é o nome genérico de um grupo de materiais baseados na reação do pó de vidro de silicato e do ácido poliacrílico. (ANUSAVICE, 2005). Na reação de presa deste material, ocorre um ataque ao vidro de fluoraluminossilicato pelo ácido poli acrílico, liberando íons positivamente carregados que reagem com o ácido carboxílico do polímero em uma reação ácido-base (GARONE NETO; BURGER, 2009). Alguns aspectos como adesão química à estrutura dentária, boa translucência e liberação de flúor fizeram este material ganhar grande popularidade (DIAZ-ARNOLD; VARGAS; HASELTON, 1999).

Cimentos compostos por materiais ionoméricos ou resinosos são os mais utilizados na atualidade (HILL; LOTT, 2011). Os cimentos resinosos ganharam popularidade em virtude de sua capacidade de união tanto com a estrutura dentária como com a restauração. A realização de restaurações indiretas retidas através de

procedimentos adesivos se configura como parte substancial da odontologia contemporânea (PEUMANS et al., 2010).

Os cimentos resinosos são essencialmente resinas compostas fluidas de baixa viscosidade (ANUSAVICE, 2005). Porém, possuem menor quantidade de partículas de carga para apresentarem a fluidez necessária à cimentação (GARONE NETO; BURGER, 2009). Este tipo de cimento pode ser polimerizado exclusivamente por luz (fotoativados), por mistura de pastas (quimicamente ativados) ou apresentar a dupla ativação. Os cimentos resinosos quimicamente ativados devem ser utilizados quando não é possível a propagação da luz através da restauração a ser cimentada, como é o caso da cimentação de peças metálicas. Tais materiais são normalmente encontrados em sistemas de dois componentes consistindo-se tanto de um pó e um líquido quanto de duas pastas (ANUSAVICE, 2005). Os materiais fotoativados têm sua polimerização iniciada, e mantida, apenas quando da presença de luz. São, portanto, indicados para a cimentação de peças de cerâmica ou de resina composta com pequenas espessuras, para permitir a passagem da luz. Os demais cimentos, com presa dual, são indicados para cimentação de inlays, onlays e coroas de cerâmica e de resina composta com translucidez suficiente para permitir a passagem da luz (GARONE NETO; BURGER, 2009). Os cimentos fotoativados são sistemas de um único componente, assim como as resinas compostas fotoativadas. À semelhança dos sistemas quimicamente ativados, os cimentos de dupla ativação apresentam dois componentes e necessitam de mistura (ANUSAVICE, 2005).

Os cimentos resinosos são normalmente compostos pelo monômero Bis-GMA em combinação com outros monômeros de baixa viscosidade e partículas de carga de sílica coloidal ou vidro de bário (20 a 80% em peso) (HILL, 2007). A popularidade deste cimento deu-se em virtude de sua capacidade de adesão à estrutura dentária, pelo uso de sistemas adesivos, e à restauração (PEGORARO; SILVA; CARVALHO, 2007). Além disso, este material apresenta superioridade em relação aos demais no tocante ao polimento, o que se deve pela facilidade de sua fase orgânica de ser polida (DE LA MACORRA; PRADÍES, 2002).

Como forma de simplificação da técnica, foram desenvolvidos os cimentos auto-adesivos, os quais prometem ser tão simples quanto os cimentos

convencionais e tão eficientes quanto os cimentos resinosos (Behr 2009). Os cimentos auto-adesivos são materiais à base de polímeros desenvolvidos para aderirem-se à estrutura dental sem a necessidade de empregar um adesivo em separado. Esta classe de agentes cimentantes se caracteriza por serem materiais híbridos, os quais combinam características das resinas compostas, adesivos auto-condicionantes e cimentos dentários. A polimerização dos cimentos auto-adesivos é do tipo dual, sendo baseada na adição de fotoiniciadores juntamente com iniciadores redox. A combinação da polimerização através da luz com a química confere, ao final, uma melhor conversão e propriedades de resistência (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011).

Os agentes cimentantes necessitam apresentar propriedades mecânicas suficientes para resistir às forças funcionais ao longo da vida útil da restauração. Propriedades como resistência, solubilidade e resistência de união são usadas para estimar a qualidade do material e desempenho clínico (ROSENSTIEL; LAND; CRISPIN, 1998). Além dos esforços funcionais provocados pela mastigação, momentos de redução do pH (VALINOTI et al., 2008), bem como as consequências negativas oriundas do metabolismo dos biofilmes cariogênicos configuram-se como situações potencialmente capazes de exercer efeitos deletérios sobre os materiais (WILLERSHAUSEN et al., 1999). Assim, para que o material seja capaz apresentar desempenho clínico satisfatório, é necessário que ele esteja apto a resistir às exigências impostas pela cavidade bucal.

2.3 – Efeito da colonização bacteriana sobre os cimentos odontológicos

Ao serem introduzidos no meio bucal, os materiais restauradores são submetidos às mesmas condições que os tecidos orais. Muitas destas condições são capazes de provocar danos ao material, como é o caso do consumo de produtos ácidos (VALINOTI et al., 2008), ação de enzimas presentes na cavidade bucal e situações de baixo pH provocadas pela ação do biofilme cariogênico (WILLERSHAUSEN et al., 1999).

A existência de restaurações com margens insatisfatórias, bandas ortodônticas e peças protéticas desadaptadas produzem sítios que favorecem a estagnação do biofilme por períodos prolongados e dificultam sua remoção

(FEJERSKOV; KIDD; BENTE, 2008). Em uma restauração indireta, o agente de cimentação é a parte mais vulnerável. Além disso, a interface de união está comumente localizada na região cervical do elemento dentário, onde problemas envolvendo a adaptação marginal e a saúde periodontal podem ser exacerbados (MESE, BURROW, TYAS, 2008).

O acúmulo de biofilme em agentes de cimentação está principalmente relacionado à porosidade e ao polimento que o material pode alcançar. Os cimentos apresentam diferentes propriedades de polimento e, neste sentido, os materiais resinosos podem ser superiores em virtude de apresentarem uma fase orgânica de fácil polimento (DE LA MACORRA; PRADÍES, 2002). A porosimetria por intrusão de mercúrio revelou poros com dimensões inferiores a 20 nm neste tipo de material, demonstrando ser mais eficaz contra a penetração de fluidos orais, bactérias e toxinas bacterianas (MILUTINOVIĆ-NIKOLIĆ; MEDIĆ; VUKOVIĆ, 2007).

O acúmulo de biofilme sobre a superfície dos materiais restauradores com consequente degradação pode potencializar o desgaste e a retenção de mais biofilme, contribuindo para reduzir a longevidade da restauração (DE WITTE; DE MAEYER; VERBEECK, 2003). Investigações acerca das consequências da ação de espécies como o *Streptococcus mutans* sobre os materiais odontológicos podem revelar aspectos importantes do seu comportamento e desempenho clínico.

De Menezes et al. (2011) investigaram o efeito da exposição de diferentes agentes cimentantes a um biofilme de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a solubilidade e a microdureza superficial desses materiais. Após a confecção dos espécimes, estes foram mantidos por 24 horas em água destilada a 37°C para hidratação dos mesmos. Ao final este período, as amostras foram aleatoriamente distribuídas em diferentes grupos e submetidas à colonização microbiana pelo *S. mutans* pelo período proposto e com trocas diárias de meio. Os autores puderam concluir que os cimentos resinosos apresentam um desempenho melhor do que os não resinosos quando expostos às condições ácidas impostas pelos produtos do metabolismo bacteriano.

A acidez do meio pode provocar a desintegração química de agentes de cimentação, afetando negativamente seu desempenho em longo prazo. Neste

sentido, Eisenburger, Addy e Rossbach (2003) investigaram a solubilidade, em meio ácido, de diferentes cimentos odontológicos e observaram que a erosão do cimento de fosfato de zinco foi significativamente maior em relação ao cimento de ionômero de vidro em todos os valores de pH testados, com a erosão aumentando a medida que o pH diminui. Já os cimentos resinosos não exibiram nenhuma alteração superficial após um período de sete dias de erosão em relação ao grupo controle.

Fúcio et al. (2008) também investigaram o efeito do biofilme de *Streptococcus mutans* durante trinta dias sobre alguns materiais odontológicos, dentre os quais o Ketac Molar, cimento de ionômero de vidro convencional, e o Vitremer, cimento de ionômero de vidro modificado por resina. Como resultado, puderam observar um efeito negativo do biofilme de *S. mutans* sobre a rugosidade superficial do Ketac Molar, sobre a microdureza de superfície do Vitremer, e sobre a morfologia de superfície de ambos os materiais.

Em estudo *in situ*, Pedrini; Gaetti-Jardim Júnior; Vasconcelos (2001) investigaram a retenção de micro-organismos bucais em cimentos de ionômero de vidro convencionais e modificados por resina comparando os resultados com uma resina composta híbrida. Os autores concluíram que os cimentos ionoméricos convencionais apresentaram uma maior retenção de micro-organismos em relação à resina composta, já os cimentos ionoméricos modificados por resina apresentaram níveis de micro-organismos retidos similares aos observados na resina composta. Ainda sobre os cimentos ionoméricos resinosos, estes exibiram retenção de *Streptococcus mutans* menor do que o cimento convencional e a resina composta.

Uma propriedade físico-mecânica que pode ser prejudicada com a degradação superficial do material é a dureza (FÚCIO et al., 2008), que pode ser compreendida como a capacidade de resistir à penetração ou ao desgaste (SOUZA et al., 2009). Materiais cujos valores de dureza são considerados baixos podem não apresentar grau de conversão, resistência à compressão e/ou à abrasão satisfatórios, uma vez que há correlação entre estes aspectos (LUCEY et al., 2010). Para investigações a respeito de tal propriedade, testes de microdureza são indicados, sendo estes realizados através de equipamento dotado de indentador com tempo e carga pré-determinados de acordo com a finalidade do estudo.

Alterações nos valores de dureza dos materiais odontológicos podem ser promovidas por várias substâncias presentes na boca, mas também a rugosidade da superfície pode ser alterada pela erosão da camada superficial. Entre os ensaios que tentam verificar tal efeito temos a verificação da rugosidade média, cuja abreviatura (Ra) deriva do termo *Roughness average*. A determinação deste parâmetro é realizada através da obtenção do quociente da soma dos valores absolutos das ordenadas em relação à linha média pelo número de ordenadas, em um determinado comprimento de amostragem (ARAÚJO, 2003).

A resistência à compressão por tração diametral também se configura como uma propriedade mecânica relevante para o desempenho do material. No entanto, é pouco utilizada na descrição dos efeitos de microrganismos sobre cimentos odontológicos. Trata-se de uma importante propriedade devido ao fato de muitos dos cimentos serem friáveis e suscetíveis a falhas mecânicas (BAN; ANUSAVICE 1990). A tração diametral faz uso da aplicação de forças compressivas verticais ao longo da lateral de um corpo de prova em formato de disco. A fratura ocorre ao longo do plano vertical, com a tensão de tração diretamente proporcional à carga compressiva aplicada (ANUSAVICE, 2005). Este teste é largamente utilizado em virtude de sua relativa simplicidade e caráter reprodutível dos resultados (BAN; ANUSAVICE 1990). A carga aplicada ao espécime durante o teste apresenta muita similaridade com aquela que ocorre no material clinicamente, já que este encontra-se confinado entre a restauração indireta e a estrutura dentária. O agente de cimentação é comprimido contra o tecido dentário quando uma carga oclusal é aplicada à restauração, à semelhança do que acontece no teste de tração diametral (Faria-e-Silva et al., 2012).

O entendimento dos possíveis efeitos dos produtos do metabolismo bacteriano de um biofilme de *Streptococcus mutans* sobre os diferentes cimentos odontológicos testados é de grande utilidade para o aprofundamento do conhecimento sobre os mesmos, pois os resultados das análises realizadas permitirão a previsão do comportamento e desempenho clínico dos mesmos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar, *in vitro*, o efeito da colonização bacteriana de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre propriedades físicas de diferentes cimentos odontológicos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da colonização de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento de fosfato de zinco utilizando-se das análises de rugosidade superficial, microdureza superficial, tração diametral e microscopia óptica;
- Avaliar o efeito da colonização de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento de ionômero de vidro convencional utilizando-se das análises de rugosidade superficial, microdureza superficial, tração diametral e microscopia óptica;
- Avaliar o efeito da colonização de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento resinoso convencional com presa exclusiva por luz (ativação por luz), utilizando-se das análises de rugosidade superficial, microdureza superficial, tração diametral e microscopia óptica;
- Avaliar o efeito da colonização de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento resinoso convencional de presa química e por luz (ativação dual), utilizando-se das análises de rugosidade superficial, microdureza superficial, tração diametral e microscopia óptica;
- Avaliar o efeito da colonização de *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento resinoso autoadesivo de presa química e por luz (ativação dual), utilizando-se das análises de rugosidade superficial, microdureza superficial, tração diametral e microscopia óptica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os materiais utilizados estão descritos no quadro 1. Todos os cimentos resinosos possuíam a cor A3 (Figuras 1, 2, 3, 4 e 5).

Quadro 1 – Cimentos odontológicos utilizados com suas respectivas composições*.

MATERIAL (FABRICANTE – NÚMERO DE LOTE)	TIPO DE MATERIAL	COMPOSIÇÃO
RelyX ARC (3M/ESPE, Saint Paul, EUA - 1322000193)	Cimento resinoso convencional de presa dual	Bis-GMA, TEGDMA e partículas de carga (vidro cerâmico silanizado)
RelyX Veneer (3M/ESPE, Saint Paul, EUA - 1222100620)	Cimento resinoso convencional de presa física	Bis-GMA, TEGDMA e partículas de carga (zircônia/ sílica)
RelyX U200 (3M/ESPE, Saint Paul, EUA - 492217)	Cimento resinoso autoadesivo de presa dual.	Vidro de fluoraluminiosilicato, dimetacrilatos, P-toluenosulfonato de sódio, hidróxido de cálcio, partículas de carga (sílica silanizada)
Ketac Cem (3M/ESPE, Saint Paul, EUA - 1322600597)	Cimento de ionômero de vidro	Pó – pó de vidro, ácido policarboxílico, pigmentos. Líquido – água, ácido tartárico, ácido benzóico
Cimento de zinco (SS White, Rio de Janeiro, Brasil - 0550813)	Cimento de fosfato de zinco	Pó – óxido de zinco e óxido de magnésio. Líquido – ácido fosfórico livre, ácido fosfórico combinado a alumínio e zinco, fosfato de alumínio, fosfato de zinco e água.

*Conforme informações do fabricante.



Figura 1 - RelyX ARC (3M/ESPE, Saint Paul, EUA)



Figura 2 - RelyX Veneer (3M/ESPE, Saint Paul, EUA)



Figura 3 - RelyX U200 (3M/ESPE, Saint Paul, EUA)



Figura 4 – Ketac Cem (3M/ESPE, Saint Paul, EUA)



Figura 5 – Cimento de fosfato de zinco (SS White, Rio de Janeiro, Brasil)

4.2 Confeção das amostras

Duzentas e cinquenta (250) amostras com 4 mm de diâmetro e 2 mm de altura foram confeccionadas a partir dos 5 diferentes materiais utilizados. Os mesmos foram inseridos em matrizes de silicone de adição (Adsil – Vigodent/Coltene, Rio de Janeiro, Brasil) nas dimensões pré-estabelecidas. A confecção dos espécimes foi realizada em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, com o auxílio de instrumental estéril de modo a evitar a ocorrência de contaminação.

Os materiais foram manipulados de acordo com as recomendações do fabricante (Figura 6) e, em seguida, inseridos nas matrizes de silicone (Figura 7). A fim de se evitar a incorporação de bolhas durante o processo de confecção das amostras, os materiais foram inseridos nas matrizes com o auxílio do Sistema Centrix para aplicação de materiais odontológicos (Centrix Incorporated, Shelton, EUA) (Figura 7).

Sobre as superfícies das amostras foram posicionadas tiras de poliéster (K-Dent – Quimidrol, Joinville, Brazil) e, sobre estas, uma placa de vidro de 5 mm de espessura para garantir a obtenção de superfícies planas. Os materiais que necessitavam de polimerização com luz foram fotoativados por 40s utilizando-se um aparelho LED (Coltololux – Coltene, Altstätten-Suíça) com potência de 850mW/cm² (Figura 8).



Figura 6 – Manipulação do material de acordo com as instruções do fabricante.



Figura 7 – Inserção do material na matriz de silicone através da Seringa Centrix.



Figura 8 – Fotopolimerização de amostra confeccionada a partir de material que necessitava de polimerização com luz.

4.3 Grupos amostrais

As amostras foram divididas em grupos experimentais segundo os tratamentos experimentais ao qual foram submetidos (Quadro 2).

Quadro 2 – Grupos amostrais e tratamentos experimentais aos quais as amostras foram submetidas.

GRUPO (n)	TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS
Grupo 1 – Controle (n=10)	Armazenamento, por 24h, em umidade relativa a 100%
Grupo 2 – BHI (n=10)	Armazenamento, por 30 dias, em meio de cultura do tipo BHI adicionado de 1% de sacarose
Grupo 3 – BHI + <i>S. mutans</i> (n=30)	Armazenamento, por 30 dias, após desenvolvimento do biofilme de <i>S. mutans</i> na superfície das amostras, em meio de cultura do tipo BHI adicionado de 1% de sacarose

O grupo 1 foi composto por 50 amostras (n=10), o grupo 2 por 50 amostras (n=10) e o grupo 3 por 150 amostras (n=30). O grupo 3 foi conduzido em triplicata devido à variabilidade dos estudos microbiológicos.

As amostras do grupo controle foram armazenadas em estufa bacteriológica a 37°C e 100% de umidade relativa (100% UR). Após 24 horas, as mesmas foram submetidas aos devidos testes. As amostras do grupo 2 foram armazenadas em meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI) - (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) adicionado de 1% de sacarose. As amostras do grupo 3, após aderência inicial de inóculo de *S. mutans* por 2 horas, também foram armazenadas em BHI + 1% de sacarose. Após trinta dias de armazenamento, em estufa bacteriológica a 37°C, as amostras dos grupos BHI e BHI + *mutans* foram analisadas.

4.4 Cepas microbianas

Foi utilizada a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 obtida da coleção de micro-organismos de referência da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e armazenadas em glicerol. Para preparo do inóculo, o micro-organismo foi semeado em placa de petri contendo ágar de BHI (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA), a qual foi armazenada em jarra de anaerobiose em estufa a 37°C por 48h.

Após este período, 0,4 ml do *S. mutans* foi inoculado em 6 mL de caldo de BHI e incubadas em jarra de anaerobiose em estufa a 37°C por 24h. Na sequência, o inóculo foi diluído em solução salina estéril e submetido a agitador tipo vortex por 15 s para medição de sua densidade óptica através de espectrofotômetro (Fluorstar Optima – BMG, Labotech, Offenburg, Alemanha) calibrado para comprimento de onda na faixa de 540 a 650 nm (Figura 9). Uma densidade óptica de 0,135 foi atingida, o que é equivalente a uma concentração celular de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL) de acordo com a escala de Mc Farland (LELLIOTT; STEAD, 1987). Esta última etapa teve o objetivo de determinar a quantidade de micro-organismos presentes no inóculo que seria sequencialmente depositado sobre a superfície das amostras.

4.5 Desenvolvimento do biofilme

O biofilme de *Streptococcus mutans* foi desenvolvido pelo período de trinta dias em placas de poliestireno de 24 poços (Nunclon, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, EUA).

Cada amostra do grupo BHI + *mutans* recebeu em sua superfície um inóculo de 20 µL da suspensão bacteriana preparada (Figura 09). Durante 2 horas as amostras foram mantidas em condições estáticas para permitir aderência inicial dos micro-organismos. Após este período, foram lavadas por três vezes em solução salina estéril para remoção das bactérias não aderidas (FÚCIO et al., 2008).

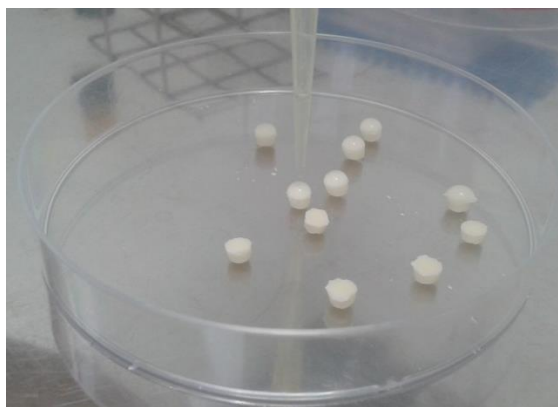


Figura 9 – Inóculo de 20 μ L de suspensão bacteriana sendo aplicado na superfície de espécimes do grupo BHI + *mutans*.

Os espécimes foram, então, inseridos individualmente nos poços da placa de poliestireno contendo 2 mL do meio de cultura caldo de BHI e 1% de sacarose (Figura 10). Na sequência, foram incubadas a 37°C por 30 dias em teor de 10% de CO₂. A troca do meio de cultura foi realizada a cada 48h. A ausência de contaminação (grupo BHI) e a pureza da cultura bacteriana (BHI + *mutans*) no meio de cultura foram verificadas a cada 48 horas utilizando-se coloração de Gram (FÚCIO et al., 2008).

Finalizados os períodos de armazenamento, as amostras foram lavadas em aparelho de ultrassom com água destilada durante 5 min e secas com papel absorvente.

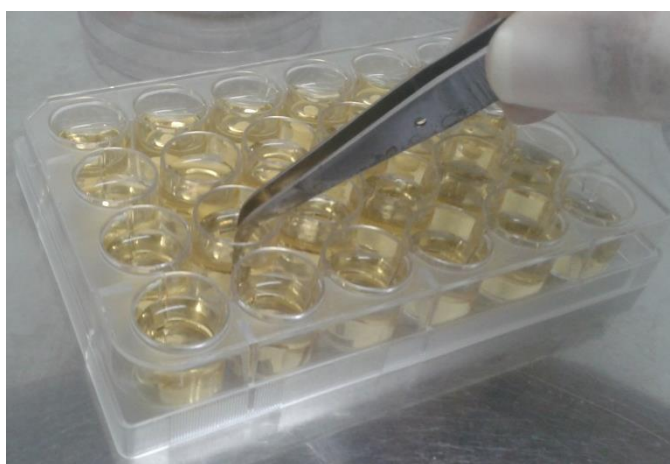


Figura 10 – Inserção dos espécimes nas placas de poliestireno.

4.6 Teste de rugosidade superficial

A rugosidade superficial foi aferida através de um rugosímetro (Surftest SJ-301 – Mitutoyo, Japão) (Figura 11). Três leituras de cada amostra, na superfície de topo, foram realizadas a partir da área central e em diferentes direções, sendo obtido o valor de rugosidade média ($R_a - \mu\text{m}$) de cada espécime ($n=10$) em cada grupo experimental.

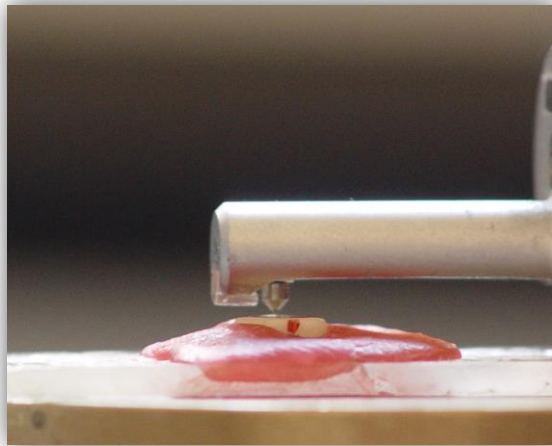


Figura 11 – Realização do teste de rugosidade (Rugosímetro Surftest SJ-301 – Mitutoyo, Japão).

4.7 Teste de microdureza superficial

Para o teste de microdureza superficial, as amostras dos diferentes grupos experimentais foram testadas em um microdurômetro (HMV II; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) dotado de uma ponta do tipo Vickers. Cinco indentações foram realizadas em cada amostra ($n=10$), na superfície de topo, utilizando-se uma carga de 200 g por 15 s para os materiais resinosos e carga de 50 g por 15 s para os materiais não resinosos (Figuras 12 e 13) (FÚCIO et al., 2008).



Figura 12 – Microdurômetro utilizado (HMV II; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).



Figura 13 – Indentação formada sobre a superfície da amostra após carregamento de uma ponta do tipo Vickers.

4.8 Ensaio de compressão por tração diametral

O ensaio de compressão por tração diametral (TD) foi realizado através de uma máquina de ensaios universal (AG-X; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) e velocidade de 0,5 mm/min (Figuras 14 e 15). A resistência máxima a fratura (MPa) foi registrada e os valores de resistência à tração diametral foram calculados por meio da fórmula:

$$TD \text{ (MPa)} = \frac{2P}{\pi DL}$$

Onde P corresponde ao valor máximo da resistência à fratura em MPa, D corresponde ao diâmetro da amostra em mm e L corresponde a espessura da amostra em mm. Dez amostras foram utilizadas em cada grupo (n=10).

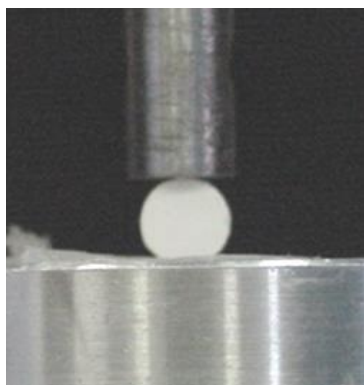


Figura 14 – Amostra submetida ao teste de tração diametral.

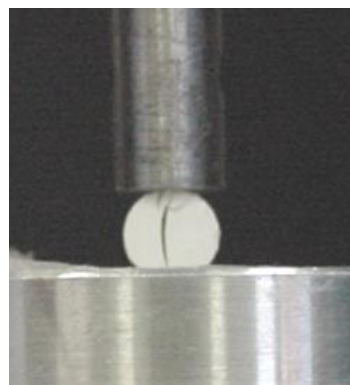


Figura 15 – Amostra fraturada após o teste de tração diametral.

4.9 Análise da superfície dos materiais

As superfícies das amostras estudadas foram analisadas através de microscopia óptica para avaliação das características topográficas das mesmas. Para tanto, os espécimes foram observados em microscópio óptico de luz refletida (Axiotech 30, Carl Zeiss, Jena, Alemanha – Figura 16) com aumento total de 100 vezes. O registro das imagens foi realizado através de uma câmera acoplada ao microscópio e de um *software* de acesso livre para captura de imagens (Shortcut to Analysis). As imagens obtidas foram importadas para o *software* de acesso livre Gwyddion 2.29, onde foram utilizadas ferramentas para edição das mesmas. Inicialmente a cor original (preto e branco) foi alterada (*color map edition*), para melhor visualização e detecção de detalhes, utilizando-se a máscara *gold* (dourada) da palheta de cores. Em seguida, utilizou-se a ferramenta “gerar 3D”, para melhor visualização da topografia de superfície.



Figura 16 – Microscópio óptico (Cral Zeiss, Axiotech 30) acoplado ao computador utilizado para obtenção das imagens.

4.10 Análise estatística

Todos os dados analisados apresentaram distribuição normal (Teste de Bartlett – $\alpha=0,05$). Desta forma, os mesmos foram submetidos à análise estatística através do Teste de Análise de Variância um fator (ANOVA One-Way) e Tukey-Krammer ($\alpha=0,05$), a fim de se determinar se houve diferença estatística significativa para as variáveis em estudo.

5. RESULTADOS

Os resultados de média e desvio-padrão dos testes de rugosidade superficial, microdureza superficial e tração diametral estão apresentadas nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente.

Tabela 1. Média $\pm$ desvio padrão dos resultados de rugosidade superficial média – Ra (μm) dos cimentos investigados nos diferentes grupos experimentais*.

Cimentos (n=10)	Grupos Experimentais		
	Controle	Armazenamento em BHI	Armazenamento em BHI + mutans
Ketac Cem	0,05 $\pm$ 0,01 ^A	1,27 $\pm$ 0,36 ^B	1,51 $\pm$ 0,33 ^C
Fosfato de Zinco	0,05 $\pm$ 0,01	----	----
Rely X ARC	0,03 $\pm$ 0,01 ^A	0,04 $\pm$ 0,01 ^A	0,05 $\pm$ 0,02 ^A
Rely X U200	0,04 $\pm$ 0,02 ^A	0,05 $\pm$ 0,02 ^A	0,05 $\pm$ 0,02 ^A
Rely X Venner	0,04 $\pm$ 0,01 ^A	0,04 $\pm$ 0,01 ^A	0,05 $\pm$ 0,02 ^A

* Valores representados por letras iguais não diferem estatisticamente na comparação entre os grupos experimentais de um mesmo cimento pelos testes de ANOVA One-Way e Tukey-Krammer ($p>0.05$).

Para os espécimes confeccionados a partir do Ketac Cem, a rugosidade superficial foi alterada após o armazenamento nos meios de cultura com e sem colonização bacteriana da superfície, sendo a maior rugosidade apresentada pelo grupo BHI + *mutans*. Não foi possível realizar a aferição da rugosidade superficial dos espécimes do cimento de fosfato de zinco, pertencentes aos grupos BHI e BHI + *mutans*. Não foram observadas diferenças significantes nos valores médios de rugosidade dos cimentos resinosos testados.

Tabela 2. Média $\pm$ desvio padrão dos resultados de dureza superficial (VHN) dos cimentos investigados nos diferentes grupos experimentais*.

Cimentos (n=10)	Grupos Experimentais		
	Controle	BHI	BHI + mutans
Ketac Cem	63,2 $\pm$ 5,8 ^A	61,9 $\pm$ 4,8 ^A	29,9 $\pm$ 7,5 ^B
Fosfato de Zinco	55,6 $\pm$ 6,9	----	----
Rely X ARC	50,6 $\pm$ 4,1 ^A	52,5 $\pm$ 5,9 ^A	45,6 $\pm$ 4,7 ^B
Rely X U200	54,5 $\pm$ 6,0 ^A	54,3 $\pm$ 5,4 ^A	49,1 $\pm$ 5,2 ^B
Rely X Venner	52,0 $\pm$ 7,9 ^A	52,8 $\pm$ 7,0 ^A	48,3 $\pm$ 5,1 ^B

* Valores representados por letras iguais não diferem estatisticamente na comparação entre os grupos experimentais de um mesmo cimento pelos testes de ANOVA One-Way e Tukey-Krammer ($p > 0.05$).

Com relação aos resultados de microdureza superficial, observou-se diferença estatística significativa entre as amostras dos grupos BHI + *mutans* de todos os materiais testados e os demais grupos. Também não foi possível a obtenção de resultados de microdureza nos espécimes do cimento de fosfato de zinco, pertencentes aos grupos BHI e BHI + *mutans*, após o armazenamento.

A análise dos resultados do teste de tração diametral permite verificar uma diminuição da resistência entre o grupo controle e após armazenamento em BHI dos espécimes do material Ketac Cem. Não se observou diferença significativa entre o armazenamento em BHI e BHI + *S. mutans*. Para o cimento de fosfato de zinco, apenas as amostras do grupo BHI apresentaram resultados de decréscimo significativo entre os experimentos. Os cimentos resinosos testados não apresentaram diferença estatística significativa de valores, independente do grupo experimental.

Tabela 3. Média $\pm$ desvio padrão dos resultados de tração diametral (MPa) dos cimentos testados nos diferentes grupos experimentais.

Cimentos (n=10)	Grupos Experimentais		
	Controle	BHI	BHI + mutans
Ketac Cem	14,08 $\pm$ 1,98 ^{A*}	8,19 $\pm$ 1,69 ^B	7,99 $\pm$ 2,04 ^B
Fosfato de Zinco	5,61 $\pm$ 0,97 ^A	4,28 $\pm$ 0,79 ^B	6,38 $\pm$ 0,94 ^A
Rely X ARC	43,71 $\pm$ 4,96 ^A	40,44 $\pm$ 4,78 ^A	40,48 $\pm$ 3,55 ^A
Rely X U200	36,56 $\pm$ 3,42 ^A	38,13 $\pm$ 4,30 ^A	35,42 $\pm$ 2,69 ^A
Rely X Venner	41,19 $\pm$ 4,70 ^A	42,80 $\pm$ 3,92 ^A	39,10 $\pm$ 3,86 ^A

* Valores representados por letras iguais não diferem estatisticamente na comparação entre os grupos experimentais de um mesmo cimento pelos testes de ANOVA One-Way e Tukey-Krammer ($p>0,05$),

As imagens obtidas por meio da microscopia óptica e editadas em *software* de edição de imagens permitem observar alterações na superfície do cimento de ionômero de vidro (Figuras 17, 18 e 19) e na superfície do cimento de fosfato de zinco (Figuras 20, 21 e 22) após a realização dos tratamentos experimentais. Para as amostras confeccionadas a partir dos cimentos resinosos (Figuras 23 a 31) as características superficiais não apresentaram variações claramente perceptíveis entre os diferentes tratamentos.

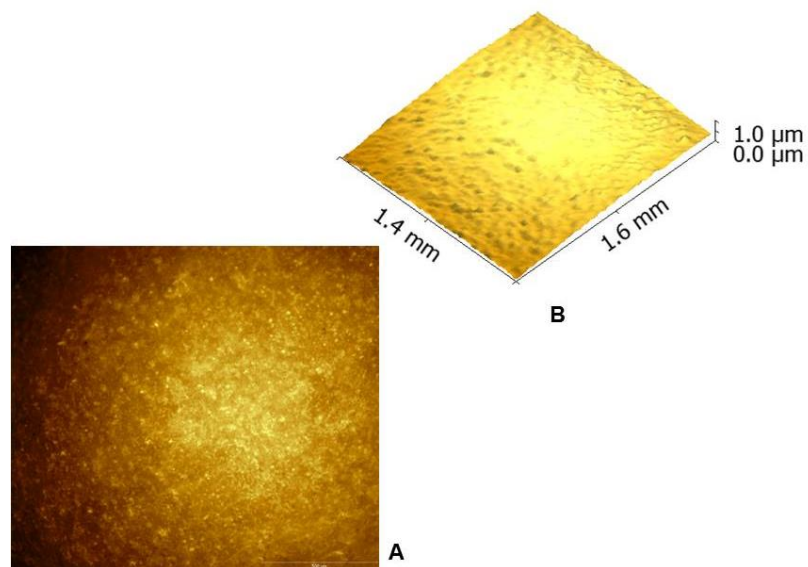


Figura 17 – Microscopia óptica do Ketac Cem – Grupo Controle (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

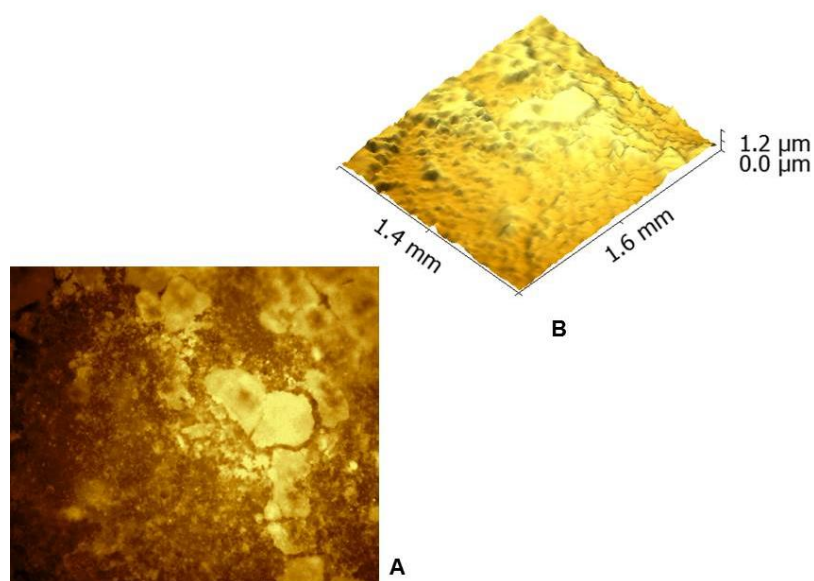


Figura 18 – Microscopia óptica do Ketac Cem – Grupo BHI (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

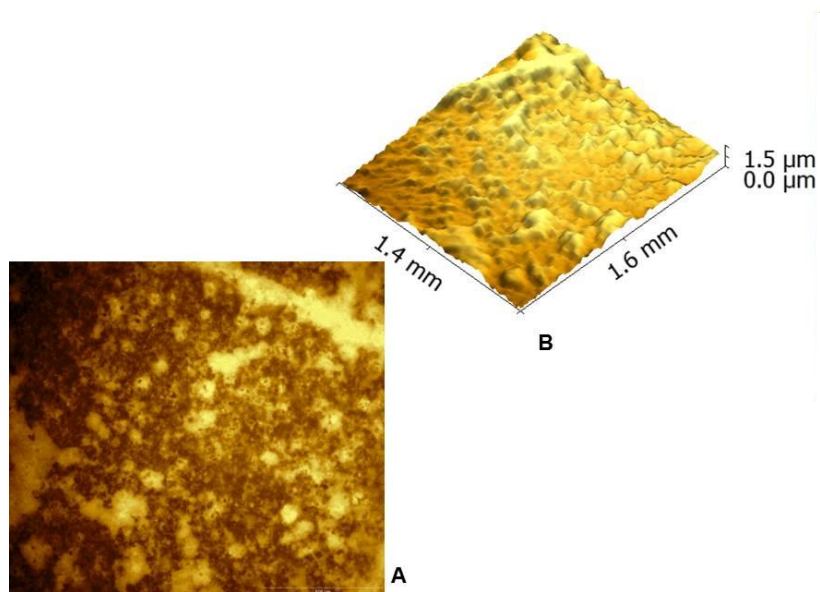


Figura 19 – Microscopia óptica do Ketac Cem – Grupo BHI + *mutans* (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

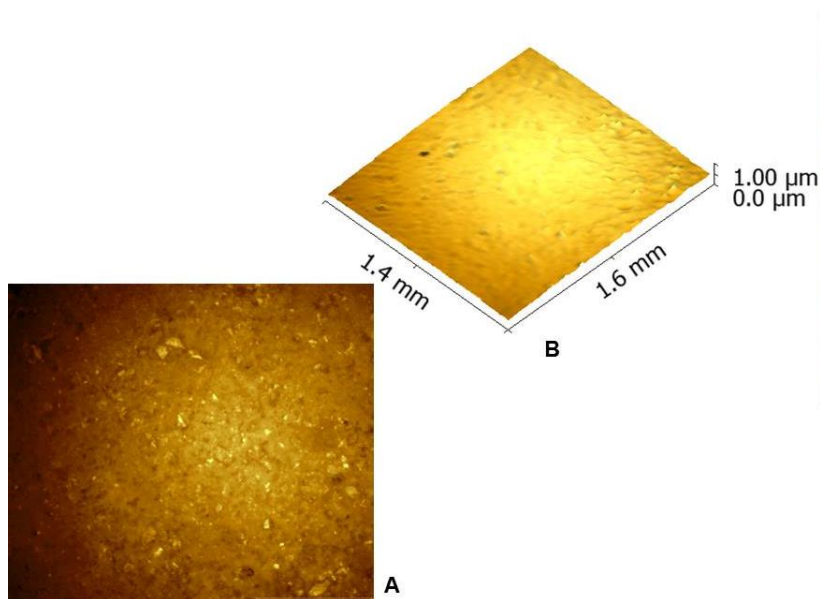


Figura 20 – Microscopia óptica do Fosfato de zinco – Grupo Controle (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

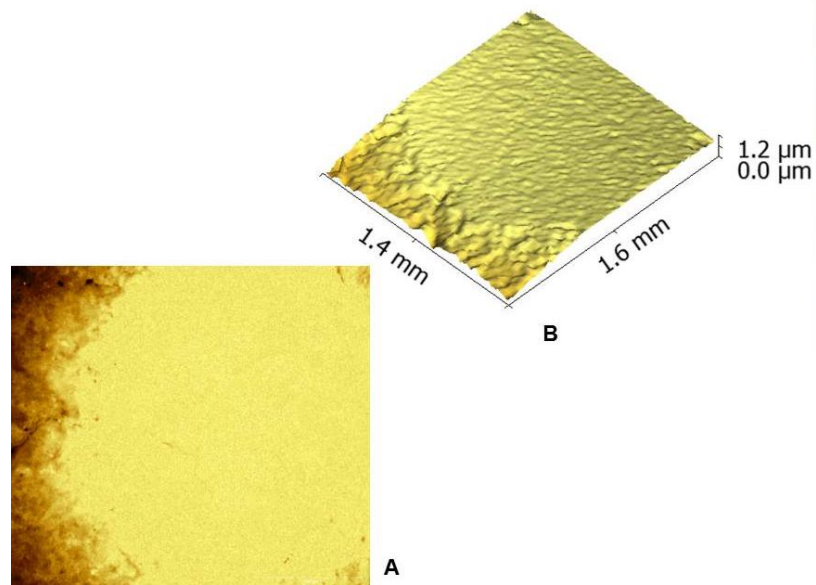


Figura 21 – Microscopia óptica do Fosfato de zinco – Grupo BHI (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

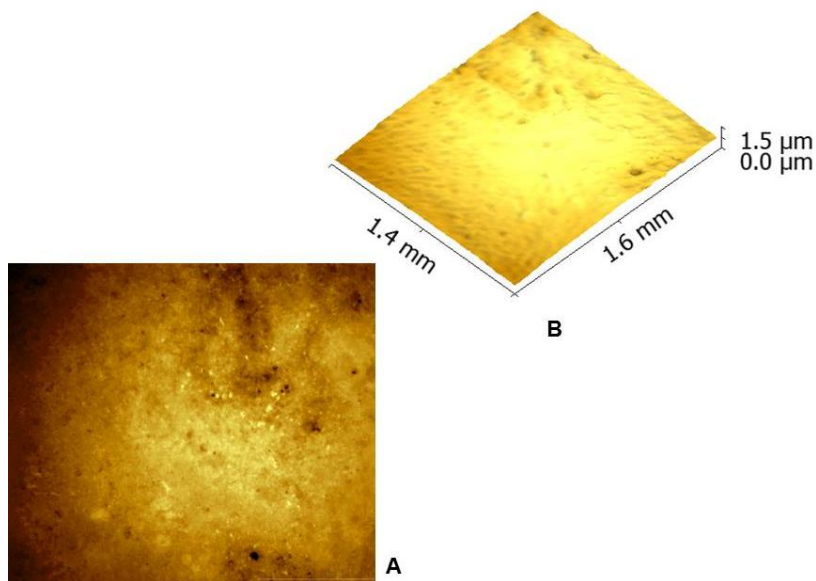


Figura 22 – Microscopia óptica do Fosfato de zinco – Grupo BHI + *mutans* (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

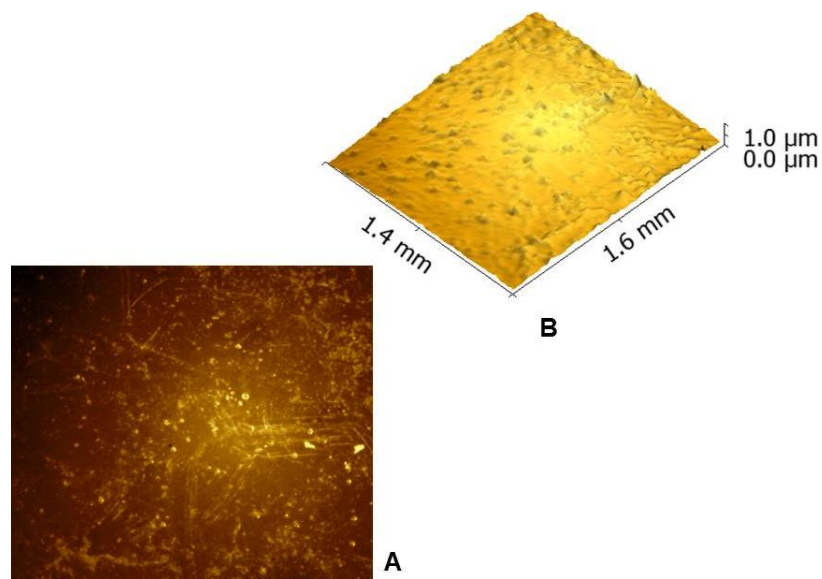


Figura 23 – Microscopia óptica do RelyX ARC – Grupo Controle (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

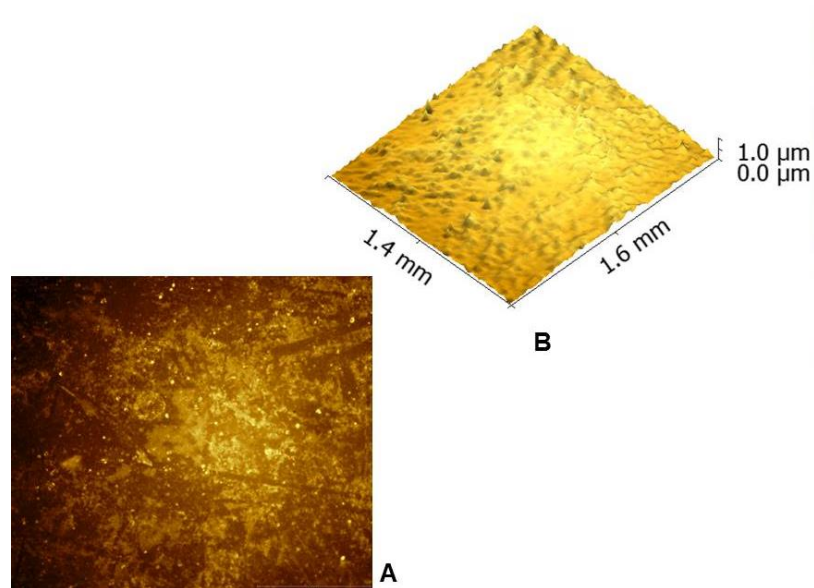


Figura 24 – Microscopia óptica do RelyX ARC – Grupo BHI (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

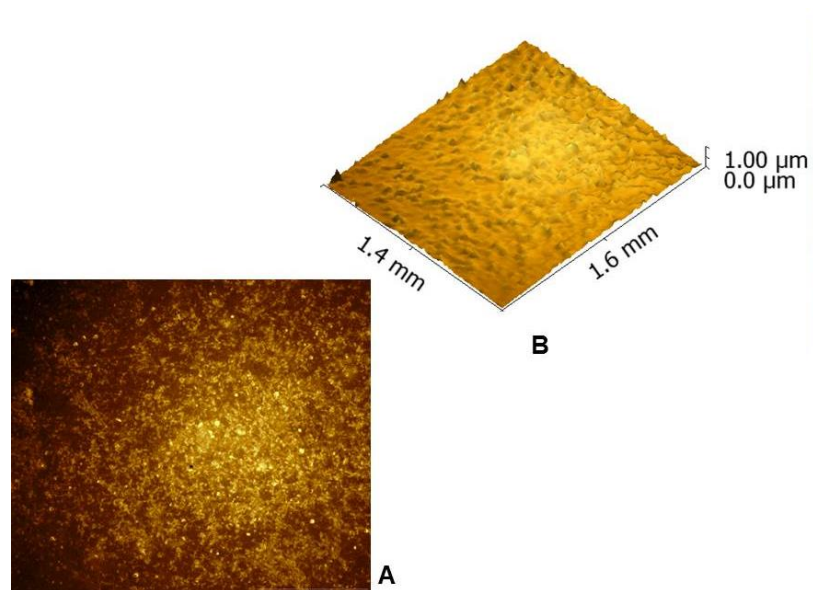


Figura 25 – Microscopia óptica do RelyX ARC – Grupo BHI + *mutans* (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

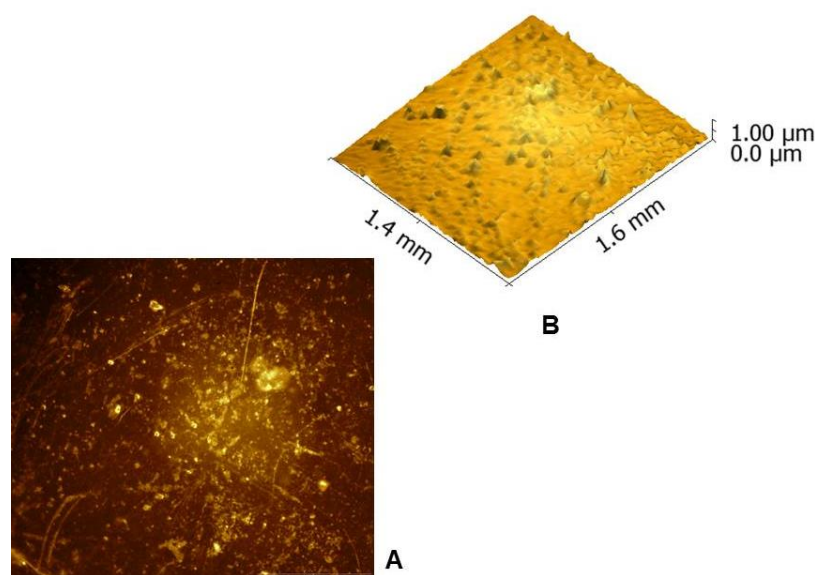


Figura 26 – Microscopia óptica do RelyX U200 – Grupo Controle (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

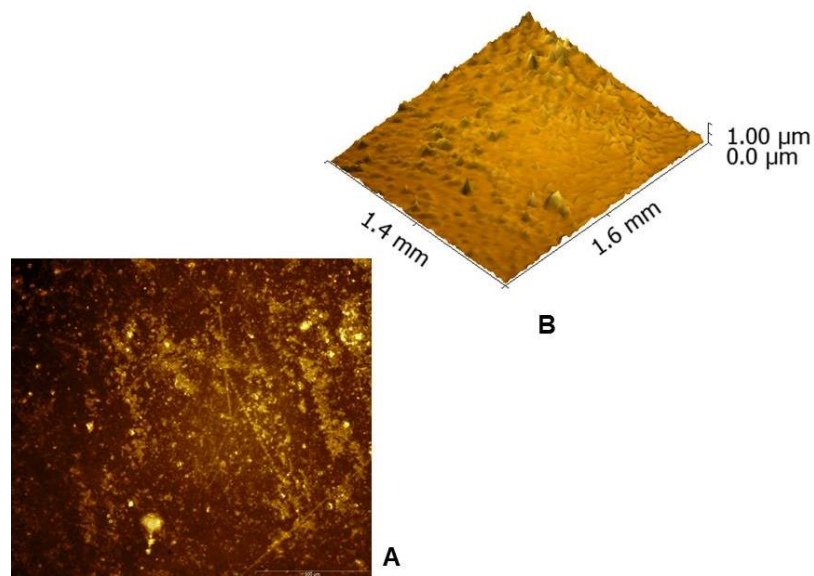


Figura 27 – Microscopia óptica do RelyX U200 – Grupo BHI (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

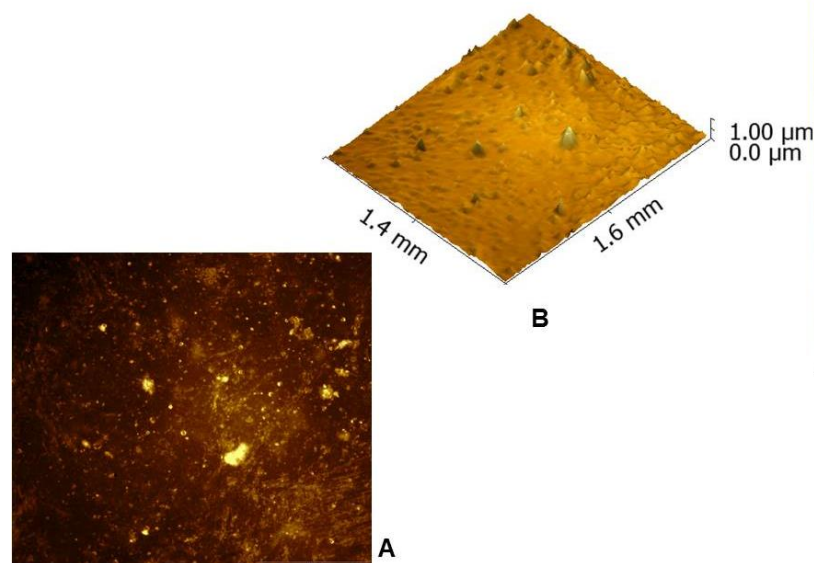


Figura 28 – Microscopia óptica do RelyX U200 – Grupo BHI + *mutans* (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

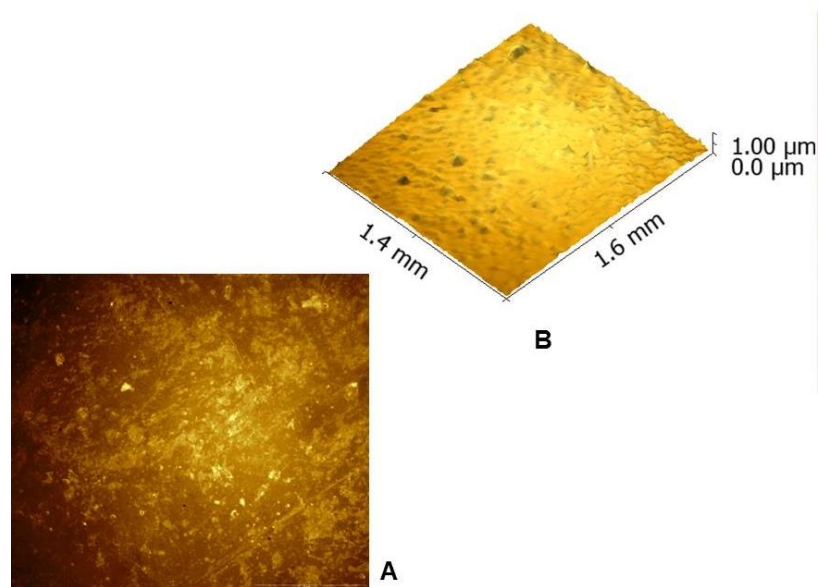


Figura 29 – Microscopia óptica do RelyX Veneer – Grupo Controle (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

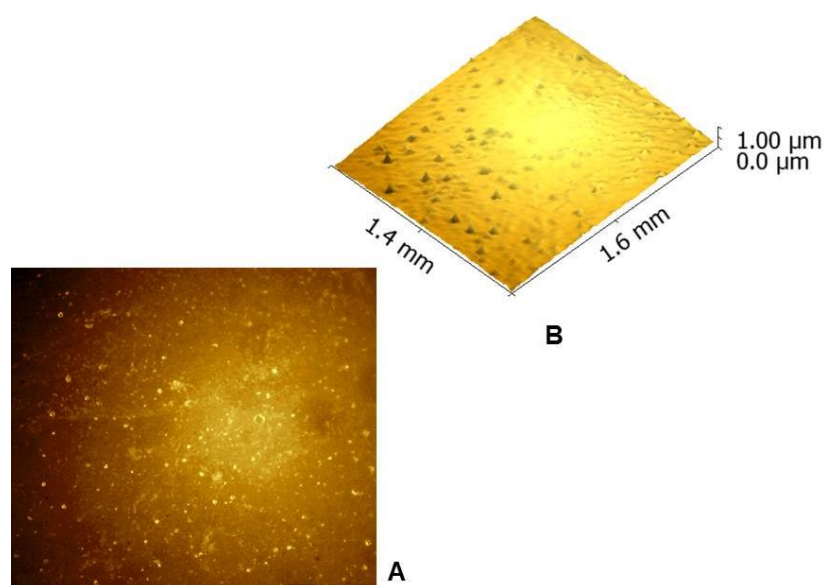


Figura 30 – Microscopia óptica do RelyX Veneer – Grupo BHI (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

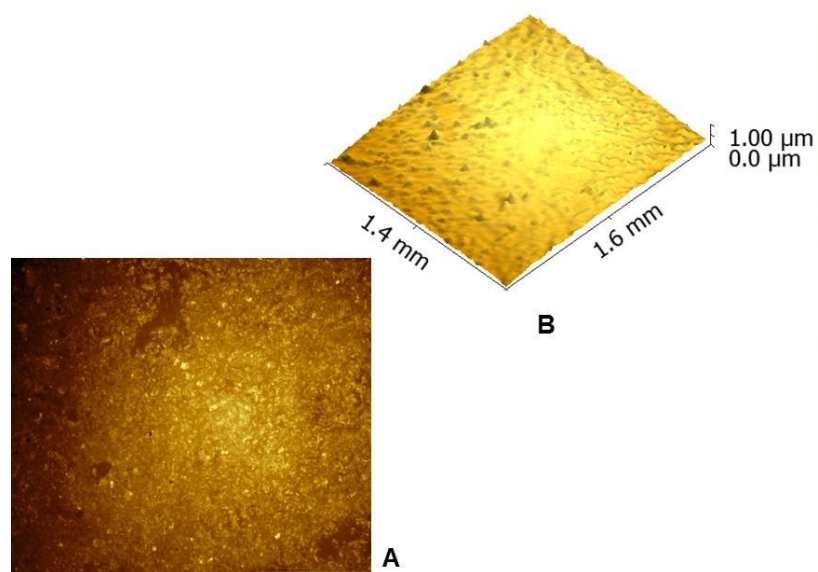


Figura 31 – Microscopia óptica do RelyX Veneer – Grupo BHI + *mutans* (A – Imagem bidimensional; B – Imagem tridimensional)

6. DISCUSSÃO

O presente estudo observou que a colonização bacteriana de *S. mutans* sobre a superfície dos materiais com reação de presa do tipo ácido-base (cimento de ionômero de vidro e cimento de fosfato de zinco) pode afetar as propriedades analisadas. Além disto, estes mesmos materiais podem, também, apresentar alterações de determinadas propriedades quando do armazenamento por imersão. Com relação aos cimentos resinosos observou-se que apenas a colonização bacteriana foi capaz de alterar a superfície dos materiais a ponto de diminuir os resultados de microdureza.

A ação dos micro-organismos produziu degradação capaz de alterar de forma significativa a rugosidade superficial dos espécimes do cimento de ionômero de vidro. Esta alteração diferiu entre os grupos experimentais com imersão em BHI com ($1,51 \pm 0,33$) e sem ($1,27 \pm 0,36$) a presença do *S. mutans*, demonstrando que a imersão em um meio líquido, por si só, foi capaz de provocar efeitos deletérios na superfície do material. Entretanto, a ação do micro-organismo exacerbou, ainda mais, este resultado. As amostras dos cimentos resinosos mantiveram inalterada sua rugosidade superficial independente da presença, ou não, do micro-organismo. O efeito de tais tratamentos experimentais foi tão significativo na superfície do cimento de fosfato de zinco que se tornou impossível a realização das leituras nas amostras.

Resultados semelhantes quanto ao desempenho dos cimentos ionoméricos também foram encontrados por Fúcio et al. (2008) e De Menezes et al. (2011), que observaram redução significativa nos valores de microdureza e rugosidade, apesar deste material apresentar a capacidade de liberar fluoretos, os quais poderiam exercer efeito direto sobre a proliferação bacteriana diminuindo-a (UNOSSON et al., 2012). O material apresentou efeitos deletérios provocados pela ação do microorganismo, o que demonstra que a presença do flúor foi ineficaz sobre a película do biofilme. O cimento de ionômero de vidro é um material hidrófilo e, devido a isto, ser mantido em ambiente de alta umidade torna-se altamente crítico. A água exerce um importante papel nas propriedades físico-mecânicas deste material devido ao fato de se basear em uma reação do tipo ácido-base (MORTIER et al., 2004). A produção de ácido láctico, resultante do metabolismo do *S. mutans*, provavelmente provocou queda no pH do meio e potencializou os efeitos do

armazenamento por imersão (FÚCIO et al. 2008). Quando mantido na presença de ácido láctico o cimento expressa maior liberação iônica, mais especificamente cálcio, tal fato decorre de um ataque preferencial do ácido à partícula de vidro e deslocamento do ácido poliacrílico, o que resulta na formação de lactato de cálcio altamente solúvel. Tal liberação ocorre de forma crescente, o que sugere um aumento na proporção de componentes solúveis em condições ácidas (CZARNECKA; LIMANOWSKA-SHAW; NICHOLSON, 2002).

O fato de os cimentos resinosos apresentarem menor solubilidade quando mantidos em meios aquosos contribuiu para seu melhor desempenho. Os cimentos resinosos apresentam menor solubilidade, com o tempo, em virtude do caráter progressivo da reação de polimerização e do consequente aumento da estabilidade do polímero (DE MENEZES et al. 2011).

Após os tratamentos experimentais, o cimento de fosfato de zinco não permitiu a realização da análise de rugosidade. A solubilização deste material já foi descrita por Yoshida; Tanagawa; Atsuta (1998), Yanikoglu; Yesil (2007), Behr et al. (2009) e De Menezes et al., 2011. Este último observou que a simples permanência deste material num meio aquoso por períodos prolongados já é capaz de provocar sua solubilização. A solubilização de tal cimento pode ser atribuída ao seu aspecto poroso (DE MENEZES et al., 2011), à lixiviação de zinco (consequência da reação contínua presa) e da formação de intermediários solúveis (MESU, 1982). Análises em meio com ácido láctico permitiram a observação de redução considerável de massa do material ao longo do tempo (CZARNECKA; LIMANOWSKA-SHAW; NICHOLSON, 2003). Os autores ainda demonstraram que a massa final do material é composta principalmente por $Zn_3(PO_4)_2 \cdot 4H_2O$, produto hidratado e ligeiramente solúvel em soluções ácidas. Como o micro-organismo utilizado apresenta capacidade de produzir ácido láctico (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1994), é provável que esta seja a causa de sua alta solubilização.

Com relação à microdureza de superfície dos espécimes do cimento de ionômero de vidro, observou-se diminuição significativa desta propriedade apenas após armazenamento em meio com micro-organismos ($29,9 \pm 7,5$). Esta alteração diferiu entre os grupos experimentais com imersão apenas em BHI ($61,9 \pm 4,8$) e controle ($63,2 \pm 5,8$). As amostras dos cimentos resinosos também demonstraram diminuição significativa de microdureza superficial na presença do micro-organismo. Também neste momento, o efeito de tais tratamentos experimentais foi

tão significativo na superfície do cimento de fosfato de zinco que foi impossível a realização das leituras nas amostras.

Diferente do que foi visto anteriormente, a simples imersão não foi capaz de alterar a microdureza de superfície do ionômero de vidro, ao contrário da manutenção dos espécimes em meio contendo o *S. mutans*. É provável que os produtos do metabolismo bacteriano tenham exercido algum efeito negativo sobre as ligações entre as cadeias de policarboxilato resultantes da reação do tipo ácido-base do material (SHINTOME et al., 2009). Diferentemente da rugosidade, tal propriedade, para os cimentos resinosos, foi alterada na presença do *S. mutans*, o que provavelmente pode ser explicado pela insolubilidade destes materiais (DE MENEZES et al., 2011) aliada à ocorrência de plastificação localizada provocada pela ação do micro-organismo (ARNOLD 1998; ITO et al., 2005). Tanto a rugosidade, quanto a microdureza do cimento de fosfato de zinco foram alteradas pela imersão e pela colonização bacteriana. As razões para tal fato já foram explicitadas anteriormente.

No presente estudo, o cimento de ionômero de vidro apresentou redução significativa nos valores de tração diametral quando mantido em BHI ($8,19 \pm 1,69$) ou em BHI + mutans ($7,99 \pm 2,04$). Neste caso específico, os valores de tração diametral reduzidos podem representar alterações no material com potencialidade para alterar suas propriedades coesivas. Este fato significa que alterações significativas ocorreram, também, no interior do material, acarretando em baixa resistência a cargas de fratura (AGUIAR et al 2013). O cimento de fosfato de zinco também apresentou redução significativa nos valores de tração diametral após imersão em BHI ($4,28 \pm 0,79$). Isto indica que, assim como o cimento ionomérico, este material apresentou alterações coesivas internas. O resultado de tração de fosfato de zinco com presença de biofilme na superfície e imersão em BHI ($6,38 \pm 0,94$) pode atrapalhar o entendimento do que de fato ocorreu, pois apesar de não apresentar significância estatística com o controle ($5,61 \pm 0,97$), a drástica redução nas dimensões de tais espécimes indica perda significativa de componentes que poderia comprometer sua permanência na cavidade bucal.

Nos materiais resinosos, os principais fatores que determinam as propriedades mecânicas são o grau de conversão, a densidade das ligações cruzadas e o conteúdo de carga (BARSZCZEWSKA-RYBAREK, 2009; GONÇALVES et al., 2009; KOMORI et al., 2010). Os dois primeiros aspectos estão

diretamente relacionados ao processo de polimerização (FARIA-E-SILVA et al., 2012). No presente estudo, os agentes de cimentação a base de resina não apresentaram alteração nos valores de resistência a tração diametral, independente do tratamento experimental, o que pode indicar que nem a manutenção dos espécimes num meio líquido, nem a ação do biofilme de *S. mutans* exerceram qualquer influência sobre tal processo de polimerização.

As imagens obtidas através de microscopia óptica permitem a observação de que diferenças na superfície dos materiais são mais facilmente perceptíveis nos cimentos à base de água do que nos cimentos resinosos, corroborando os resultados de rugosidade superficial apresentados.

Frente aos resultados obtidos é possível observar que a presença do biofilme de *S. mutans* sobre a superfície dos cimentos odontológicos testados e o armazenamento com imersão em meio de cultura (grupo BHI + *mutans*), bem como o simples armazenamento em meio de cultura (grupo BHI) promoveram diferenças nos resultados de rugosidade de superfície, microdureza de superfície e tração diametral, sendo material dependente. Considerando que, clinicamente, a degradação da superfície de um material é inicialmente provocada pela exposição ao conteúdo do meio oral e que, com o passar do tempo, tensões de natureza mecânica podem exacerbar este efeito químico (SILVA et al., 2013), com possível interferência da saliva, com seu efeito tampão (BARBOSA et al., 2012) pode-se afirmar que nenhum dos materiais foi capaz de se manter inalterado nos diferentes tratamentos experimentais. No entanto, os cimentos resinosos apresentaram melhor desempenho diante das condições testadas. Novas análises devem ser realizadas para maior entendimento do comportamento de tais materiais na cavidade bucal.

7. CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, pode-se concluir que:

- A colonização por *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, inviabilizou a aferição dos valores de rugosidade e microdureza de superfície do cimento de fosfato de zinco. Os valores de tração diametral não foram alterados, entretanto, a redução na área dos espécimes confirma o efeito negativo do *S. mutans* sobre este material. As características superficiais deste tipo de cimento também apresentaram alteração após o desenvolvimento do biofilme;
- A colonização por *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento de ionômero de vidro convencional alterou os valores de rugosidade, microdureza e tração diametral, bem como as características superficiais;
- A colonização por *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento resinoso convencional com presa exclusiva por luz (ativação por luz) alterou os valores de microdureza, mas não os de rugosidade e tração diametral, tampouco as características superficiais;
- A colonização por *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento resinoso convencional de presa química e por luz (ativação dual) alterou os valores de microdureza, mas não os de rugosidade e tração diametral, tampouco as características superficiais;
- A colonização por *Streptococcus mutans*, durante trinta dias, sobre a superfície de um cimento resinoso autoadesivo de presa química e por luz (ativação dual), alterou os valores de microdureza, mas não os de rugosidade e tração diametral, tampouco as características superficiais.

REFERÊNCIAS*

1. AAPD. Guideline on pediatric restorative dentistry. *Pediatr Dent*. 2008-2009; 30 (7 Suppl): 163-9.
2. Aguiar DA, Ritter DE, Rocha R, Locks A, Borgatto AF. Evaluation of mechanical properties of five cements for orthodontic band cementation. *Braz Oral Res.*, (São Paulo) 2013 Mar-Apr;27(2):136-41.
3. Ahluwalia P, Chopra S, Thomas AM. Strength characteristics and marginal sealing ability of chlorhexidine-modified glass ionomer cement: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2012;30:41-6.
4. Anusavice, K. J. Phillips - Materiais Dentários. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
5. Araújo JLN. Análise in vitro da rugosidade superficial apresentada pelas porcelanas ômega 900 e vitadur alpha após a utilização de três diferentes sistemas de polimento [dissertação]. São Paulo: USP/FOUSP, 2003.
6. Arnold JC. The effects of diffusion on environmental stress crack initiation in PMMA. *J. Mater. Sci*. 1998; 33(21) 5193-204.
7. Asmussen E. Softening of BISGMA-based polymers by ethanol and by organic acids of plaque. *Scand J Dent Res*. 1984; 92(3): 257-61.

* De acordo com as normas do PPGO/UFPB, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors - Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

8. Badra VV, Faraoni JJ, Ramos RP, Palma-Dibb RG. Influence of different beverages on the microhardness and surface roughness of resin composites. *Oper Dent*. 2005; 30(2):213-9.
9. Ban S, Anusavice KJ. Influence of test method on failure stress of brittle dental materials. *J Dent Res*. 1990; 69(12): 1791-9.
10. Barbosa RPS, Pereira-Cenci T, Silva WM, Coelho-de-Souza FH, Demarco FF, Cenci MS. Effect of cariogenic biofilm challenge on the surface hardness of direct restorative materials in situ. *J Dent*. 2012; 40: 359 – 63.
11. Barszczewska-Rybarek IM (2009) Structure-property relationships in dimethacrylate networks based on Bis-GMA, UDMA and TEGDMA. *Dent Mater* 25, 1082-1089.
12. Behr M, Rosentritt M, Wimmer J, Lang R, Kolbeck C, Bürgers R et al. Self-adhesive resin cement versus zinc phosphate luting material: a prospective clinical trial begun 2003. *Dent Mater*. 2009; 25(5): 601-4.
13. Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI. *Streptococcus mutans* biofilm changes surface-topography of resin composites. *Dent Mater*. 2008; 24:732–6.
14. Bourbia M, Ma D, Cvitkovitch DG, Santerre JP, Finer Y. Cariogenic Bacteria Degrade Dental Resin Composites and Adhesives. *J Dent Res*. 2013; 92(11): 989-94.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Nacional de Saúde Bucal. Projeto SB Brasil 2003: Condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003. Resultados Principais. Brasília, 2004. 68p.

16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Nacional de Saúde Bucal. Cadernos de Atenção Básica, nº. 17. Brasília, 2006.
17. Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. Dent Mater. 2009; 25: 269–75.
18. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. Biofilm formation on dental restorative and implant materials. J Dent Res. 2010; 89(7): 657-65.
19. Carmello JC, Fais LM, Ribeiro LN, Claro Neto S, Guaglianoni DG, Pinelli LA. Diametral tensile strength and film thickness of an experimental dental luting agent derived from castor oil. J Appl Oral Sci. 2012; 20(1): 16-20.
20. Chaves LP, Graciano FMO, Bim Júnior O, Pedreira APRV, Manso AP, Wang L. Water interaction with dental luting cements by means of sorption and solubility. Braz Dent Sci. 2012; 15 (4): 29-35.
21. Clinical Research Associates (CRA). Clinicians' Guide to Dental Products and Techniques. CRA Newsletter. 2004, 28: 1-2.
22. Conceição EN. Materiais restauradores indiretos. In: Conceição EM, organizador. Dentística Saúde e Estética. Porto Alegre: Artmed; 2007. p. 426-449.
23. Cramer NB , J.W. Stansbury JW, Bowman CN. Recent Advances and Developments in Composite Dental Restorative Materials. J Dent Res 90(4):402-416, 2011.

24. Cury JA, Tenuta LMA. How to maintain a cariostatic fluoride concentration in the oral environment. *Adv Dent Res*. 2008; 1(20): 13-6.
25. Cury JA, Vásquez-Ccahuana RAS. Mutans biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel demineralization. *Braz Oral Res*. 2010; 24(2): 135-41.
26. Czarnecka B, Limanowska-Shaw H, Nicholson JW. Ion-release, dissolution and buffering by zinc phosphate dental cements. *J Mater Sci Mater Med*. 2003 Jul;14(7):601-4.
27. Della Bona A, Benetti P, Borba M, Cecchetti D. Flexural and diametral tensile strength of composite resins. *Braz Oral Res* 2008;22:84-89.
28. Delaviz Y, Finer Y, Santerre JP. Biodegradation of resin composites and adhesives by oral bacteria and saliva: A rationale for new material designs that consider the clinical environment and treatment challenges. *Dent Mater*. 2014; 30(1): 16-32.
29. De La Macorra JC, Pradíes G. Conventional and adhesive luting cements. *Clin Oral Investig*. 2002; 6(4): 198-204.
30. De Menezes FCH, Júnior GT, de Oliveira WJ, de Paiva Paulino T, de Moura MB, da Silva IL, et al. Analysis of the Properties of Dental Cements after Exposure to Incubation Media containing *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract*. 2011; 12(5): 385-91.
31. De Witte AMJC, De Maeyer EAP, Verbeeck RMH. Surface roughening of glass ionomer cements by neutral NaF solutions. *Biomaterials*. 2003; 24: 1995-2000.
32. Diaz-Arnold AM, Vargas MA, Haselton DR. Current status of luting agents for fixed prosthodontics. *J Prosthet Dent*. 1999; 81(2):135-41.

33. Eisenburger M, Addy M, Rossbach A. Acidic solubility of luting cements. *J Dent*. 2003; 31: 137-42.
34. Elliott JE, Lovell LG, Bowman CN (2001) Primary cyclization in the polymerization of bis-GMA and TEGDMA: a modeling approach to understanding the cure of dental resins. *Dent Mater* 17, 221-229.
35. Faria-e-Silva AL, Piva E, Lima GS, Boaro LC, Braga RR, Martins LR. Effect of immediate and delayed light activation on the mechanical properties and degree of conversion in dual-cured resin cements. *J Oral Sci*. 2012 Sep;54(3):261-6.
36. Fejerskov O, Kidd E, Bente N. Dental caries: the disease and its clinical management. 2. ed. Oxford: Blackwell Munksgaard, 2008.
37. Fejerskov, O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*. 2004; 38(3):182-91.
38. Ferracane JL, Stansbury JW, Burke FJ. Self-adhesive resin cements - chemistry, properties and clinical considerations. *J Oral Rehabil*. 2011; 38(4):295-314.
39. Finer Y, Santerre JP. The influence of resin chemistry on a dental composite's biodegradation. *J Biomed Mater Res A*. 2004; 69(2):233-46.
40. Florio FM, Klein MI, Pereira AC, Goncalves BR. Time of initial acquisition of mutans streptococci by human infants. *J Clin Pediatr Dent*. 2004; 28(4), 303-8.
41. Forss H, Jokinen J, Spets-Happonen S, Seppa L, Luoma H. Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. *Caries Res*. 1991; 25(6): 454-8.

42. Fúcio SB, Carvalho FG, Sobrinho LC, Sinhoreti MA, Puppim-Rontani RM. The influence of 30-day-old *Streptococcus mutans* biofilm on the surface of esthetic restorative materials—An in vitro study. *J Dent*. 2008; 36: 833-839.
43. Garone Neto N; Burger RC. *Inlays, Onlays Metálica e Estética*. 2. ed. São Paulo: Santos, 2009.
44. Gonçalves F, Kawano Y, Pfeifer C, Stansbury JW, Braga RR (2009) Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites. *Eur J Oral Sci* 117, 442-446.
45. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev*. 1980; 44(2): 331-84.
46. Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci*. 2005; 113(1):2-13.
47. Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci*. 2006; 19: 29-64.
48. Hill EE. Dental cements for definitive luting: a review and practical clinical considerations. *Dent Clin N Am*. 2007; 51:643-658.
49. Hill EE, Lott J. A clinically focused discussion of luting materials. *Aust Dent J*. 2011; 56 (Suppl 1):67-76.
50. Hills HL. Posterior resin restorations in pediatric dentistry. *N Y State Dent J*. 1986; 52(2): 36-8.
51. International Organization for Standardization. ISO 9917-1:2007. Dentistry – waterbased cements -- part 1: powder/liquid acid-base cements. [acesso 2013 Dec 16]. Disponível em: <http://www.iso.ch/iso/en/prods-services/ISOstore/store.html>

52. International Organization for Standardization. ISO No. 4049:2000. Dentistry -- polymer-based filling, restorative and luting materials. Geneva: ISO. [acesso 2013 Dec 16]. Disponível em: <http://www.iso.ch/iso/en/prods-services/ISOstore/store.html>.
53. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*. 2005; 26(33): 6449-59.
54. Jill E. McKenna, Noel J. Ray, Gerald McKenna, and Francis M. Burke. The Effect of Variability in the Powder/Liquid Ratio on the Strength of Zinc Phosphate Cement. *International Journal of Dentistry* Volume 2011, Article ID 679315, 4 pages
55. Johansson I, Birkhed D. A dieta e o processo cariogênico. In: Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia Clínica*. 2 ed. São Paulo: Santos, 1995, p. 283-310.
56. Komori PC, de Paula AB, Martin AA, Tango RN, Sinhorette MA, Corrêa-Sobrinho L (2010) Effect of light energy density on conversion degree and hardness of dual-cured resin cement. *Oper Dent* 35, 120-124.
57. Korkmaz FM, Tüzüner T, Baygin O, Buruk CK, Durkan R, Bagis B. Antibacterial activity, surface roughness, flexural strength, and solubility of conventional luting cements containing chlorhexidine diacetate/cetrimide mixtures. *J Prosthet Dent*. 2013; 110:107-15.
58. Kuybulu FI, Gemalmaz D, Pameijer CH, Yarat A, Alcan T. Erosion of luting cements exposed to acidic buffer solutions. *Int J Prosthodont*. 2007; 20: 494-95.
59. Lelliott RA, Stead DE. *Methods for the diagnosis of bacterial plant disease*. Oxford: Blackwell, 1987.

60. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res.* 2000; 14: 40-7.
61. Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD et al. : Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol.* 2004; 97: 1311–8.
62. Llena-Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006; 11: E449-55.
63. Lucey S, Lynch CD, Ray NJ, Burke FM, Hannigan A. Effect of pre-heating on the viscosity and microhardness of a resin composite. *J Oral Rehabil.* 2010; 37(4):278-82.
64. Marghalani HY. Sorption and solubility characteristics of self-adhesive resin cements. *Dent Mater.* 2012; 28(10): 187-98.
65. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology.* 2003; 1(149): 279-294.
66. Marsh P, Martin MV. *Microbiologia Oral.* 4. ed. São Paulo: Santos, 2005.
67. Meşe A, Burrow MF, Tyas MJ. Sorption and solubility of luting cements in different solutions. *Dent Mater J.* 2008; 27(5): 702-9.
68. Mesu FP. Degradation of luting cements measured in vitro. *J Dent Res.* 1982; 61: 665—72.
69. Milutinović-Nikolić AD, Medić VB, Vuković ZM. Porosity of different dental luting cements. *Dent Mater.* 2007; 23: 57-62.

70. 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; 25:4457–63.
71. Mortier E, Gerdolle DA, Jacquot B, Panighi MM. Importance of water sorption and solubility studies for couple bonding agent – resin-based filling material. *Oper Dent*. 2004; 29: 669-76.
72. Paula AB, Fucio SBP, Ambrosano GMB, Alonso RCB, Sardi JCO, Puppini-Rontani RM. Biodegradation and Abrasive Wear of Nano Restorative Materials. *Oper Dent*. 2011; 36(6), 670-677.
73. Papadogiannis D, Tolidis K, Lakes R, Papadogiannis Y. Viscoelastic properties of low-shrinking composite resins compared to packable composite resins. *Dent Mater J*. 2011; 30(3): 350-7.
74. Pedrini D, Gaetti-Jardim Júnior E, de Vasconcelos AC. Retention of oral microorganisms on conventional and resin-modified glass-ionomer cements. *Pesqui Odontol Bras*. 2001; 15(3): 196-200.
75. Pegoraro TA, da Silva NR, Carvalho RM. Cements for use in esthetic dentistry. *Dent Clin North Am*. 2007; 51(2): 453-71.
76. Peumans M, Van Meerbeek B, Lambrechts P, Vanherle G. Porcelain veneers: a review of the literature. *J Dent* 2000; 28:163–77.
77. Rainer Schmeiser, Hans-Ju'rgen Gu'rlow. The influence of luting cements on the fermentation of sucrose by oral microorganisms. *Journal of Dentistry* 27 (1999) 37–41 p. 37-41.
78. Rosenstiel SF, Land MF, Crispin BJ. Dental luting agents: A review of the current literature. *J Prosthet Dent*. 1998 Sep; 80(3):280-301.

79. Shintome LK, Nagayassu MP, Di Nicoló R, Myaki SI. Microhardness of glass ionomer cements indicated for the ART technique according to surface protection treatment and storage time. *Braz Oral Res.* 2009; 23(4): 439-45.
80. Shivakumar KM, Vidya SK, Chandu GN. Dental caries vaccine. *Indian J Dent Res.* 2009; 20(1): 99-106.
81. Silva EM, Noronha-Filho JD, Amaral CM, Poskus LT, Guimarães JG. Long-term degradation of resin-based cements in substances present in the oral environment: influence of activation mode. *J Appl Oral Sci.* 2013; 21(3): 271-7.
82. Souza AR, De Mello FB, Turbino ML, Youssef MN. Influence of eugenol on the microhardness of composite resin using current bonding systems. *Pesqui Odontol Bras.* 2000; 14(3): 237-42.
83. Souza ROA, Zogheib LV, Lombardo GHL, Pereira PC, Barca DC, Pavanelli CA. Avaliação da dureza Vickers de resinas compostas de uso direto e indireto. *Cienc Odontol Bras.* 2009; 12(1): 23-30.
84. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ.* 2001; 65: 1028-37.
85. ten Cate JM. Fluoride in caries prevention and control: Empiricism or science. *Caries Res.* 2004; 38: 254-257.
86. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17 Suppl 2: 68-81.
87. Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia Clínica*. 2. ed. São Paulo: Santos, 1994.

88. Turkun LS, Turkun M, Ertugrui F, Ates M, Brugger S. Long term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine containing glass ionomer cement. *J Esthet Restor Dent*. 2008; 20: 29-45.
89. Turssi CP, Hara AT, Serra MC, Rodrigues AL, Jr. Effect of storage media upon the surface micromorphology of resin-based restorative materials. *J Oral Rehabil*. 2002; 29(9): 864-71.
90. Unosson E, Cai Y, Jiang X, Lööf J, Welch K, Engqvist H. Antibacterial properties of dental luting agents: potential to hinder the development of secondary caries. *Int J Dent*. 2012; 2012: 529495.
91. Updyke J, Sneed WD. Placement of a preformed indirect resin composite shell crown: a case report. *Pediatr Dent*. 2001; 23(3): 243-44.
92. Valinoti AC, Neves BG, da Silva EM, Maia LC. Surface degradation of composite resins by acidic medicines and ph-cycling. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16(4): 257-65.
93. Willershausen B, Callaway A, Ernst CP, Stender E. The influence of oral bacteria on the surfaces of resin-based dental restorative materials—an in vitro study. *Int Dent J*. 1999; 49(4): 231-9.
94. Xie D, W.A. Brantley, B.M. Culbertsonb, G. Wanga. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. *Dental Materials* 16 (2000) 129–138 p. 129-138.
95. Yanikoglu N, Yesil Duymus Z. Evaluation of the solubility of dental cements in artificial saliva of different pH values. *Dent Mater J*. 2007; 26: 62-7.
96. Yap AU, Low JS, Ong LF. Effect of food-simulating liquids on surface characteristics of composite and polyacid-modified composite restoratives. *Oper Dent*. 2000; 25(3):170-6.

97. Yap AU, Lim LY, Yang TY, Ali A, Chung SM. Influence of dietary solvents on strength of nanofill and ormocer composites. *Oper Dent*. 2005; 30(1):129-33.
98. Yengopal V, Harneker SY, Patel N, Siegfried N. Dental fillings for the treatment of caries in the primary dentition. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009; 15(2): CD004483.
99. Yoshida K, Tanagawa M, Atsuta M. In-vitro solubility of three types of resin and conventional luting cements. *J Oral Rehabil*. 1998; 25(4): 285-91.

B823e Brasil, Veruska Lima Moura.
 Efeito da colonização de *Streptococcus mutans* nas
propriedades físicas de diferentes cimentos odontológicos /
Veruska Lima Moura Brasil.- João Pessoa, 2014.
63f. : il.
Orientador: Hugo Lemes Carlo
Coorientadora: Fabíola Galbiatti de Carvalho Carlo
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS
1. Odontologia. 2. *Streptococcus mutans*. 3. Cimentos
dentários. 4. Propriedades físicas.

UFPB/BC

CDU: 616.314(043)