



Mestrado em Reabilitação Oral

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Avaliação da superfície de materiais de base de prótese dentária – estudo *in vitro*

Cláudio Ferreira Júnior

Porto, 2021



Mestrado em Reabilitação Oral

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Avaliação da superfície de materiais de base de prótese dentária – estudo *in vitro*

Cláudio Ferreira Júnior

Orientadora:

Prof^a Doutora Maria Helena Guimarães Figueiral da Silva

Professora Catedrática da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto (FMDUP)

Coorientadora:

Prof^a Doutora Maria Margarida Ferreira Sampaio Fernandes

Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto (FMDUP)

Dissertação de candidatura ao
grau de Mestre apresentada à
Faculdade de Medicina Dentária
da Universidade do Porto

“Um dia, quando olhar para
trás, os anos de luta lhe
parecerão os mais bonitos.”

Freud

Agradecimentos

A elaboração deste trabalho não teria sido possível sem a ajuda preciosa de várias pessoas, a quem quero desde já agradecer o incentivo, disponibilidade e cooperação.

À Professora Doutora Maria Helena Figueiral, orientadora deste trabalho, por todo o empenho, preocupação e disponibilidade que sempre demonstrou ao longo da realização do mesmo.

Ao Professora Doutora Maria Margarida Ferreira Sampaio Fernandes, coorientadora deste trabalho, pelo cuidado, preocupação e orientação, nomeadamente na dedicação para a concretização deste trabalho, que foram imprescindíveis para a sua elaboração.

Ao Professor Doutor Engenheiro Ramiro Martins, Investigador Senior do Instituto de Ciência e Inovação em Engenharia Mecânica e Engenharia Industrial (INEGI), por toda a ajuda e disponibilidade no estudo da rugosidade de superfície, muito obrigado!

Ao Dr. Ricardo Vidal da Silva (Biointerfaces and Nanotechnology, technician do i3S), pela sua colaboração nas medições do ângulo de contacto.

A Professora Doutora Liliana Grenho, por toda ajuda, disponibilidade, ensinamentos e paciência ao longo do estudo microbiológico presente neste trabalho.

Ao Professor Doutor Roberto Stegun pela inspiração, apoio e oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Dr. José Manuel Torres e ao laboratório DentalMar por todo o empenho e colaboração nas fases laboratoriais.

À minha parceira, binómia e amiga, Maria Luísa, por todos os momentos que passamos juntos, obrigada por todo o apoio dado nestes dois anos.

À minha família, pelo incentivo e apoio incondicional, por estarem sempre lá, obrigado!

Resumo

O polimetilmetacrilato (PMMA) é a resina convencional mais utilizada como material de base de prótese dentária removível, contudo, recentemente, os materiais termoplásticos usados nas próteses flexíveis têm vindo a tornar-se mais relevantes na reabilitação oral. As propriedades da superfície dos materiais de base de prótese podem favorecer a adesão e acumulação da placa microbiana que, por sua vez, facilita o desenvolvimento de patologias na cavidade oral. Este estudo pretende avaliar, após polimento laboratorial recomendado pelos fabricantes, os parâmetros de rugosidade de superfície, ângulo de contacto e adesão de *C. albicans* em dois materiais de base para próteses termoplásticas (flexíveis) – o polipropileno e a poliolefina – e compará-los com os do PMMA.

Foram confeccionados 9 espécimes (65 mm x 40 mm x 5 mm), 3 de cada um dos seguintes materiais: polipropileno (RocalFlex, Brasil), poliolefina (iFlex® by TCS®, EUA) e PMMA (Millennium®, Keystone Industries, EUA), e depois submetidos a polimento laboratorial convencional, segundo as instruções do fabricante. Posteriormente foi avaliado o nível da rugosidade de superfície em cada grupo (Ra e Rz) com recurso ao rugosímetro ótico 3D NPFLEX (Bruker, Alemanha) e também calculado o ângulo de contacto com o tensiómetro ótico *Contact angle system OCA15 (Dataphysics Instruments)*. A adesão de *C. albicans* foi avaliada com quantificação das unidades formadoras de colónias (UFC). Efetuou-se a análise estatística no programa SPSS® v.28.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM, EUA), considerando um nível de significância de 0,05.

Após polimento recomendado, verificou-se que a rugosidade média aritmética (Ra), o ângulo de contacto e a adesão de *C. albicans* são inferiores para o PMMA, comparativamente às resinas termoplásticas. Verificam-se diferenças estatisticamente significativas: entre o polipropileno e o PMMA ($p=0,045$) no Ra; entre os 3 grupos no parâmetro de ângulo de contacto ($p < 0,001$); e na adesão de *C. albicans*, sendo esta superior nos materiais termoplásticos - poliolefina e polipropileno - em comparação com o PMMA ($p<0,05$).

Embora sejam desejáveis mais estudos, nos quais se avaliem outras condições e diferentes parâmetros, é possível concluir que, nas condições desta investigação e

para os materiais estudados, o PMMA apresenta menor rugosidade, menor ângulo de contacto e menor adesão de *C. albicans* que o polipropileno e a poliolefina, confirmando-se como material de primeira escolha no fabrico de próteses dentárias removíveis em resina.

Palavras-chave: base de prótese dentária; materiais termoplásticos; PMMA; rugosidade de superfície; ângulo de contacto; adesão de *Candida albicans*.

Abstract

Polymethylmethacrylate (PMMA) is the most commonly used conventional resin as a base material for removable dentures, but recently, thermoplastic materials used in flexible dentures have become more relevant in oral rehabilitation. The surface properties of denture base materials can promote the adhesion and accumulation of microbial plaque, which, in turn, facilitates the development of pathologies in the oral cavity. This study aims to evaluate, after laboratory polishing recommended by the manufacturers, the parameters of surface roughness, contact angle and adhesion of *C. albicans* on two base materials for thermoplastic (flexible) prostheses – polypropylene and polyolefin – and compare them with those of the PMMA.

Nine specimens were made (65 mm x 40 mm x 5 mm), 3 of each of the following materials: polypropylene (RocalFlex, Brazil), polyolefin (iFlex® by TCS®, USA) and PMMA (Millennium®, Keystone Industries, USA), and then subjected to conventional laboratory polishing, according to the manufacturer's instructions. Subsequently, the level of surface roughness in each group (Ra and Rz) was evaluated using a 3D optical rugosimeter NPFLEX (Bruker, Germany) and the contact angle was also calculated using an optical tensiometer Contact angle system OCA15 (Dataphysics Instruments). *C. albicans* adhesion was evaluated with quantification of colony forming units (CFU). Statistical analysis was performed using SPSS® v.28.0 (Statistical Package for Social Sciences, IBM, USA), considering a significance level of 0.05.

After recommended polishing, it was observed that the arithmetic average roughness (Ra), the contact angle and the adhesion of *C. albicans* are lower for PMMA compared to thermoplastic resins. Statistically significant differences are observed: between polypropylene and PMMA ($p=0.045$) in Ra; between the 3 groups in the contact angle parameter ($p < 0.001$); and in *C. albicans* adhesion, which is superior in thermoplastic materials – polyolefin and polypropylene - compared to PMMA ($p<0.05$).

Although more studies are desirable, in which other conditions and different parameters are evaluated, it is possible to conclude that, under the conditions of this investigation and for the materials studied, PMMA has lower roughness, lower contact angle and lower adhesion of *C. albicans* than PMMA polypropylene and polyolefin, being confirmed as the first choice material in the manufacture of resin-based dentures.

Keywords: dental prosthesis base; thermoplastic materials; PMMA; surface roughness; contact angle; *Candida albicans* adhesion.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo.....	v
Abstract	vii
Índice de Figuras.....	xi
Índice de Tabelas	xii
Lista de Abreviaturas	xiii
1. Introdução.....	2
2. Material e Métodos	6
2.1. Preparação dos espécimes	6
2.2. Rugosimetria	9
2.3. Medição do ângulo de contacto.....	11
2.4. Avaliação da adesão de <i>C. albicans</i>	13
2.4.1. Preparação dos espécimes.....	13
2.4.2 Microrganismos e condições de cultura	14
2.4.3. Adesão de <i>C. albicans</i>	14
2.5. Análise estatística.....	16
3. Resultados.....	18
3.1. Rugosidade de superfície	18
3.2. Ângulo de contacto e molhabilidade	22
3.3 Adesão de <i>C. albicans</i>	23
4. Discussão	26
5. Conclusão	33
Referências Bibliográficas	36
Anexos.....	41

Índice de Figuras

<i>Figura 1. Desenho 3D do protótipo.</i>	<i>6</i>
<i>Figura 2. Protótipo impresso para a confeção dos espécimes.</i>	<i>7</i>
<i>Figura 3. Espécime de PMMA (Millennium®).</i>	<i>7</i>
<i>Figura 4. Espécime de polipropileno (RocalFlex®).</i>	<i>7</i>
<i>Figura 5. Espécime de poliolefina (iFlex®).</i>	<i>7</i>
<i>Figura 6. Máquina polidora KAVO EWL®.</i>	<i>8</i>
<i>Figura 7. Espécimes de PMMA, polipropileno e poliolefina após o polimento.</i>	<i>8</i>
<i>Figura 8. Esquema de funcionamento de um rugosímetro ótico.</i>	<i>9</i>
<i>Figura 9. Rugosímetro 3D NPFLEX® utilizado para análise dos parâmetros de rugosidade.</i>	<i>10</i>
<i>Figura 10. Tensões superficiais envolvidas na medida do ângulo de contacto 11</i>	<i>11</i>
<i>Figura 11. Variação do ângulo de contacto e da molhabilidade.</i>	<i>12</i>
<i>Figura 12. Tensiómetro ótico Contact angle system OCA15 (Dataphysics Instruments).</i>	<i>12</i>
<i>Figura 13. Espécimes utilizados para avaliação da adesão de C. albicans.</i>	<i>13</i>
<i>Figura 14. Espécimes distribuídos nos poços com o meio de cultura celular.</i>	<i>14</i>
<i>Figura 15. Espécimes imersos em PBS para serem levados ao ultrassom.</i>	<i>15</i>
<i>Figura 16. Reconstrução 3D da superfície de um espécime polido de PMMA.</i>	<i>18</i>
<i>Figura 17. Reconstrução 3D da superfície de um espécime polido de polipropileno.</i>	<i>19</i>
<i>Figura 18. Reconstrução 3D da superfície de um espécime polido de poliolefina.</i>	<i>19</i>
<i>Figura 19. Gráfico da variável Rugosidade média (Ra) de cada grupo estudado.</i>	<i>21</i>
<i>Figura 20. Gráfico da variável Rugosidade máxima (Rz) de cada grupo estudado.</i>	<i>21</i>
<i>Figura 21. Fotografia do procedimento do ângulo de contacto por método de gota séssil 22</i>	<i>22</i>
<i>Figura 22. Valores médios e desvio padrão do ângulo de contacto (em graus) para cada material.</i>	<i>23</i>
<i>Figura 23. Cultura microbiológica de C. albicans para contagem das UFCs num espécime de PMMA, polipropileno e poliolefina 23</i>	<i>23</i>
<i>Figura 24. Comparação da adesão de C. albicans (UFC/mL) entre os grupos de materiais.</i>	<i>24</i>

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1. Valores médios e desvio padrão da rugosidade média (Ra) e da rugosidade máxima (Rz) por espécime e grupo.</i>	<i>20</i>
<i>Tabela 2. Valores da média, mediana e desvio padrão da UFC/mL, para cada grupo ou material.</i>	<i>24</i>

Lista de Abreviaturas

PMMA: polimetilmetacrilato

Ra: rugosidade média aritmética

Rz: alturas máximas do perfil de rugosidade

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

Rpm: rotações por minuto

μm: micrómetro

UFC: unidade formadora de colónias

ISO: International Organization for Standardization

Introdução

1. Introdução

Os materiais de resina acrílica têm sido amplamente utilizados na Medicina Dentária, especialmente na área da reabilitação oral, para fabrico de diferentes tipos de próteses (1). O polimetilmetacrilato (PMMA) é a resina convencional mais utilizada como material de base de prótese dentária removível devido às suas características favoráveis – excelente estética, baixa absorção de água e solubilidade, ausência de toxicidade, capacidade de reparação, técnica de fabrico simples e baixo custo (2-4). No entanto, também apresenta algumas limitações e, não é adequado para todas as situações clínicas. Têm sido relatados casos de pacientes com hipersensibilidade ao PMMA nomeadamente ao monómero residual (2). Existem ainda pacientes com maior exigência estética que recusam a presença de ganchos metálicos habitualmente presentes nas próteses acrílicas (5). Por outro lado, o PMMA apresenta uma resistência ao impacto relativamente baixa, levando frequentemente a situações de fraturas da base da prótese (6). Outro problema relaciona-se com a incapacidade de alguns pacientes em inserir e manter a prótese em estreita adaptação aos tecidos, nomeadamente por quadros de destreza manual reduzida ou de condições fisiológicas e morfológicas adversas (tórus, microstomia, crista alveolar desfavorável, etc.).

O desenvolvimento das resinas termoplásticas nos últimos anos tem vindo a ganhar relevância na reabilitação oral, com recurso a próteses flexíveis (7). As bases destas próteses apresentam vantagens ao nível do conforto dos pacientes, da melhoria da retenção com menor necessidade de modificações dentárias e ainda nas situações de intolerância ao PMMA (2, 8). São uma alternativa altamente estética e, devido ao baixo módulo de elasticidade, apresentam maior resistência ao impacto e menor risco de fratura (5, 7). Contudo, é difícil que estas próteses alcancem um polimento satisfatório, resultando num brilho da superfície menor quando comparado ao do PMMA, e numa maior suscetibilidade à coloração por fatores extrínsecos. São, ainda, referidas diversas complicações no caso da necessidade de rebasamento ou reparação deste tipo de próteses (5, 9).

As propriedades da superfície de qualquer material de base de prótese são motivo de particular preocupação, uma vez que alguns estudos demonstraram uma relação direta entre a rugosidade da superfície, a acumulação de placa microbiana e a adesão de *Candida albicans* (*C. albicans*) (10, 11). Por sua vez, a maior presença

de microrganismos favorece o desenvolvimento de estomatite protética, inflamação gengival e cárie nos dentes pilares (12, 13).

A estomatite protética caracteriza-se clinicamente por um processo inflamatório da mucosa de suporte de uma prótese dentária removível e tem como localização preferencial a mucosa do palato. Apresenta uma prevalência muito elevada, com valores médios na ordem dos 50% em populações de portadores de prótese selecionadas de forma aleatória (14). Embora a etiologia da estomatite protética seja multifatorial, espécies de *Candida* desempenham um papel crítico na patogênese desta doença, sendo *C. albicans* o isolado predominante (14, 15). A patogenicidade das espécies *Candida* é mediada por fatores de virulência, como a capacidade de aderir às superfícies (16). A adesão inicial é seguida pela divisão celular, proliferação e produção de matrizes extracelulares (16, 17), resultando em comunidades microbianas complexas conhecidas como biofilmes, que aderem às superfícies internas das próteses, transformando-as em reservatórios de patógenos. Os biofilmes são muito mais resistentes à terapia antifúngica e às defesas imunológicas do hospedeiro que os microrganismos isoladamente (16, 17), aumentando, assim, o risco de infecções sistêmicas graves (14), principalmente em pacientes imunocomprometidos (15).

Existem evidências na literatura sobre o efeito da rugosidade de superfícies de PMMA na formação do biofilme dentário. Por outro lado, diversos autores constataram a adesão de espécies de *Candida* e *Streptococcus* a próteses dentárias confeccionadas em PMMA (14, 18-23), relacionando a rugosidade aumentada das superfícies com uma maior adesão destes microrganismos (13, 22, 24-26). A literatura refere que superfícies mais irregulares facilitam a colonização microbiana ao providenciar nichos ou espaços onde os microrganismos estão protegidos de forças de limpeza e deslocação, frequentes na cavidade oral (13, 21, 25-27). Por outro lado, aumentando a rugosidade, também aumenta a área da superfície física de adesão, o que favorece a colonização (26).

Num estudo de 2010, Abuzar *et al.* comparam a rugosidade da superfície do PMMA com a da poliamida, um material de base de prótese termoplástica contendo nylon. A poliamida foi considerada significativamente mais áspera do que PMMA, quer antes quer depois do polimento padrão. No entanto, esta diferença apresenta-se dentro de um limite clínico aceitável quando comparada com o nível de limiar *in*

vivo de 0,2 µm de rugosidade média, valor a partir do qual a placa microbiana tende a acumular-se com mais facilidade (2, 28).

Adicionalmente, a rugosidade pode, também, ter um efeito sobre as propriedades físico-químicas da superfície como a molhabilidade, medida pelo ângulo de contacto (19), que segundo alguns autores, também poderá estar relacionado com a adesão de *C. albicans*. No entanto, existem dados inconsistentes para o efeito da hidrofobicidade superficial na adesão inicial de *C. albicans* aos materiais de base de prótese. Uma relação entre a adesão microbiana e o ângulo de contacto do substrato, ou seja, um maior número de células aderindo a superfícies mais hidrofóbicas, foram observados por Klotz *et al.* (20), enquanto Minagi *et al.* observaram menor adesão de *C. albicans* a superfícies mais hidrofóbicas (21). Outros trabalhos encontraram uma correlação fraca-positiva ou não significativa entre hidrofobicidade e adesão inicial e formação de biofilme de *C. albicans* em resinas acrílicas (22-25).

Recentemente, materiais termoplásticos como o polipropileno e a poliolefina, com base exclusivamente na química de hidrocarbonetos e sem fibras incorporadas, foram desenvolvidos para uso como bases de prótese removível e retentores da cor do dente, com o objetivo de melhorar a estética, o conforto do paciente e a resistência ao impacto.

Este estudo pretende avaliar, após polimento laboratorial recomendado pelos fabricantes, os parâmetros de rugosidade de superfície, ângulo de contacto e adesão de *C. albicans* em dois materiais de base para próteses termoplásticas (flexíveis) – o polipropileno (RocalFlex®, São Paulo, Brasil) e a poliolefina (iFlex®, TCS Dental Inc., EUA) – e compará-los com os do PMMA (Millennium® - Keystone Industries, Gibbstown, NJ, EUA).

Assim, foram formuladas as seguintes hipóteses nulas:

H01: Não existem diferenças estatisticamente significativas na rugosidade entre o PMMA e cada um dos materiais termoplásticos estudados.

H02: Não existem diferenças estatisticamente significativas no ângulo de contacto entre o PMMA e cada um dos materiais termoplásticos estudados.

H03: Não existem diferenças estatisticamente significativas na adesão de *C. albicans* entre o PMMA e cada um dos materiais termoplásticos estudados.

Material e Métodos

2. Material e Métodos

Este trabalho de investigação é um estudo *in vitro* sobre características de superfície de materiais de base de prótese dentária e resulta de uma colaboração entre a Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, o Instituto de Ciência e Inovação em Engenharia Mecânica e Engenharia Industrial (INEGI) e o Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (i3S) da Universidade do Porto.

2.1. Preparação dos espécimes

Os espécimes foram fabricados considerando a norma ISO 20795-1(29), com as dimensões de 5 mm × 40 mm × 65 mm. Foi usado um molde (Figura 1) desenhado no SolidWorks® (Dassault Systemes, França), e a impressão 3D correspondente foi baseada na estereolitografia de LASER (Figura 2). De acordo com o modelo impresso, foram fabricados 9 espécimes, 3 de cada um dos seguintes materiais: polimetilmetacrilato / PMMA (Millennium® - Keystone Industries, Gibbstown, NJ, EUA), com recurso a técnicas de compressão - (Figura 3); dois materiais termoplásticos - o polipropileno (RocalFlex®, São Paulo, Brasil) e a poliolefina (iFlex®, TCS Dental Inc., EUA), confeccionados por técnica de injeção (Figuras 4 e 5).

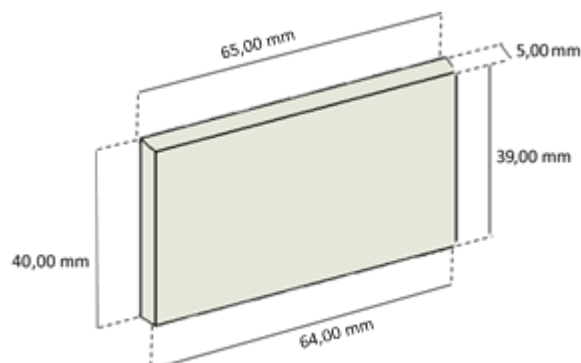


Figura 1. Desenho 3D do protótipo.

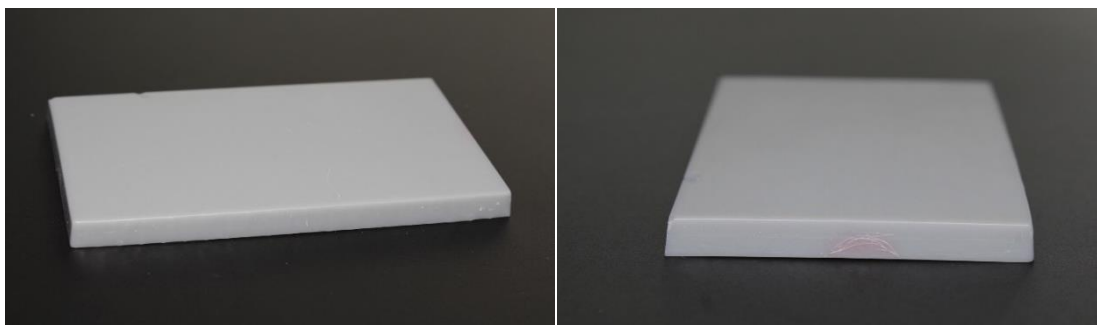


Figura 2. Protótipo impresso para a confecção dos espécimes.

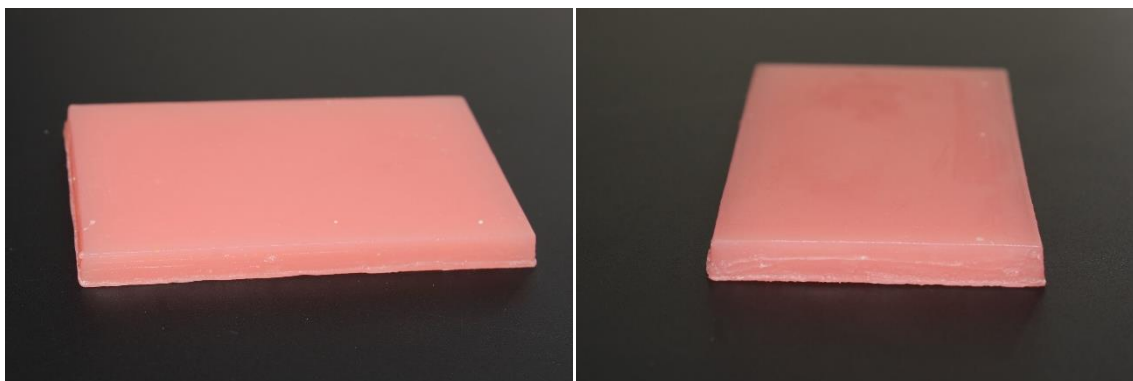


Figura 3. Espécime de PMMA (Millennium®).

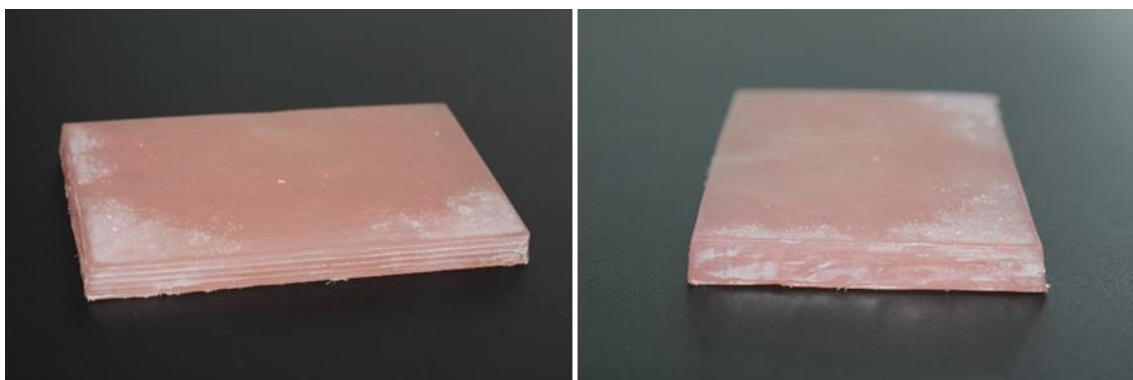


Figura 4. Espécime de polipropileno (RocalFlex®).

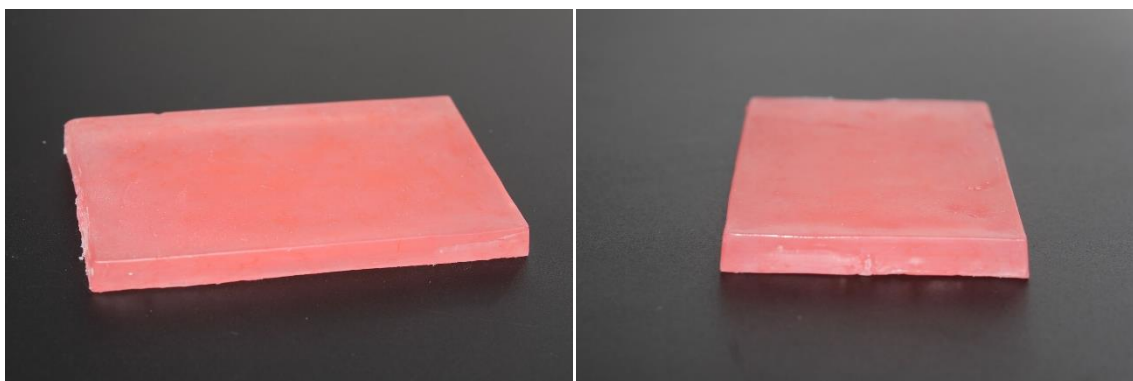


Figura 5. Espécime de poliolefina (iFlex®).

Os espécimes de polipropileno e poliolefina foram polidos primeiro com grãos de pedra pomes em ambiente húmido a 3000 rpm e depois com uma roda de pano seco com a pasta Ishine (4220-01) TCS® num torno (KAVO EWL®) a 1500 rpm (Figura 6). Por sua vez, os espécimes de PMMA foram polidos inicialmente com grãos de pedra-pomes em ambiente húmido a 3000 rpm e depois polidos num torno com um disco de tecido de algodão embebido em líquido para polimento de acrílico Edelweiss Dentaurum® a 1500 rpm, para obter um alto brilho.

Todos os espécimes foram polidos por um único operador, um técnico de prótese experiente, para reduzir a variabilidade relacionada com a pressão aplicada durante o procedimento (Figura 7).



Figura 6. Máquina polidora KAVO EWL®.

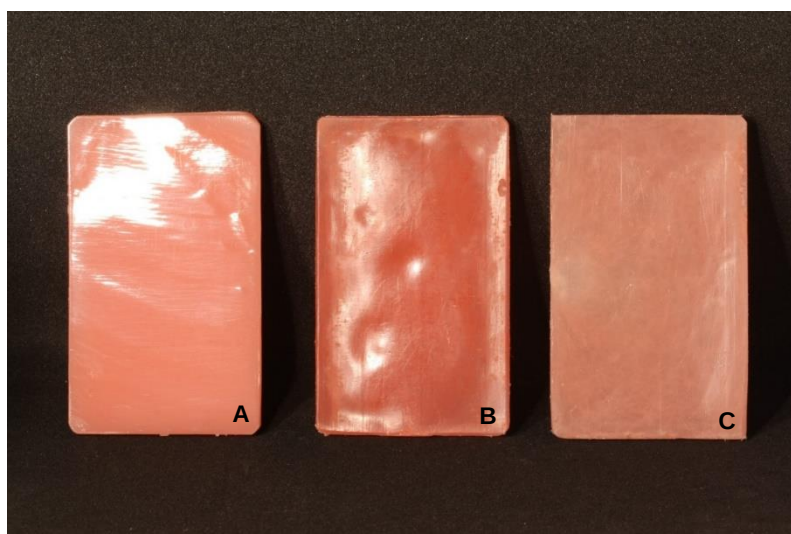


Figura 7. Espécimes de PMMA (A), polipropileno (B) e poliolefina (C) após o polimento.

2.2. Rugosimetria

A rugosimetria ótica utiliza luz em vez de uma sonda física para avaliar a superfície de um espécime, e pode ser realizada de várias formas. Neste trabalho usou-se um equipamento de interferometria de luz branca (White light interferometry) com uma lente do tipo Linnik. Esta técnica utiliza uma fonte de luz branca que remete a luz para um divisor de feixe, sendo parte da luz enviada para a superfície a medir e outra parte para um espelho de referência. Quando a luz é refletida do espelho e da superfície recombina-se e produz um pico de intensidade quando ambos os feixes se encontram em fase. A câmara (CCD) deteta estas variações de intensidade (função da distância da superfície) e mostra-as na forma de franjas. Para realizar a medição, o espécime é movimentado na direção do feixe de luz de modo que as franjas de interferência “varram” toda a superfície a medir. (Figura 8) Uma das vantagens desta técnica é a aquisição da imagem/mapa ser muito rápida. (30-32)

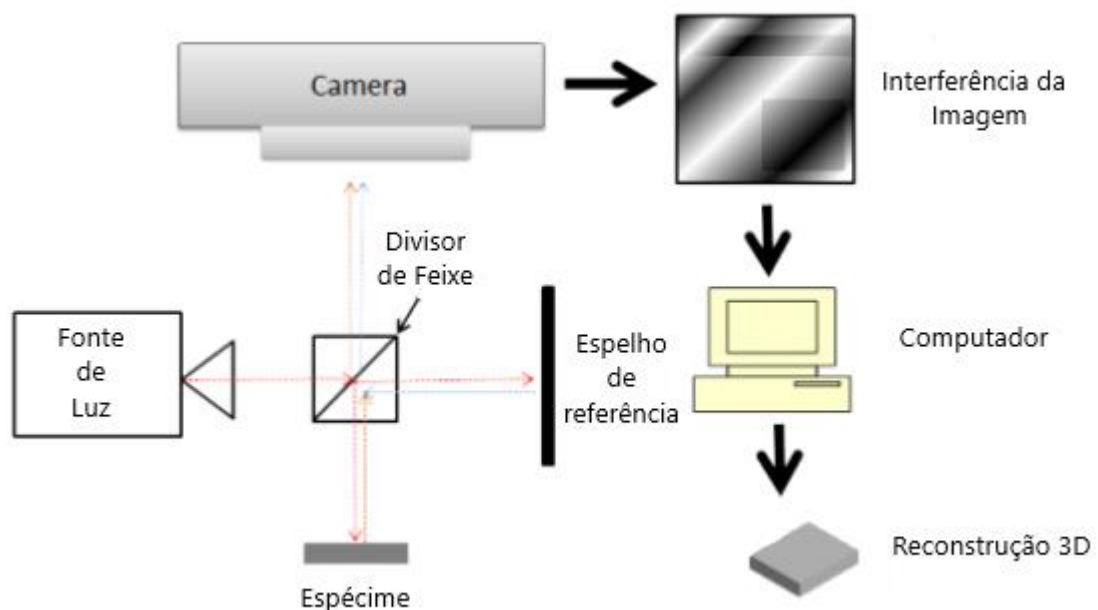


Figura 8. Esquema de funcionamento de um rugosímetro ótico.

(adaptado de <https://www.analiticaweb.com.br/microscopia-eletronica>)(33)

A interação entre a luz e a superfície pode ser complexa, dependendo da ondulação da luz, da rugosidade da superfície e da natureza do corpo. A profundidade de penetração da luz também afeta a medição. A luz penetra na superfície por diferentes profundidades de acordo com o coeficiente de absorção do material (34).

Este método de medição sem contacto, ao contrário de medições com contacto, não danificam a superfície em análise e permitem gerar imagens em 3D. As principais vantagens do método ótico são: a área varrida pela medição, a aplicabilidade no processo de medição, e a velocidade de medição (35).

A superfície polida de todos os espécimes foi avaliada quantitativamente com recurso a interferometria ótica utilizando o rugosímetro ótico 3D NPFLEX (Bruker, Alemanha) (Figura 9), com realização de 1200 x 1200 pontos de medição. Foram determinados os parâmetros Ra e Rz.

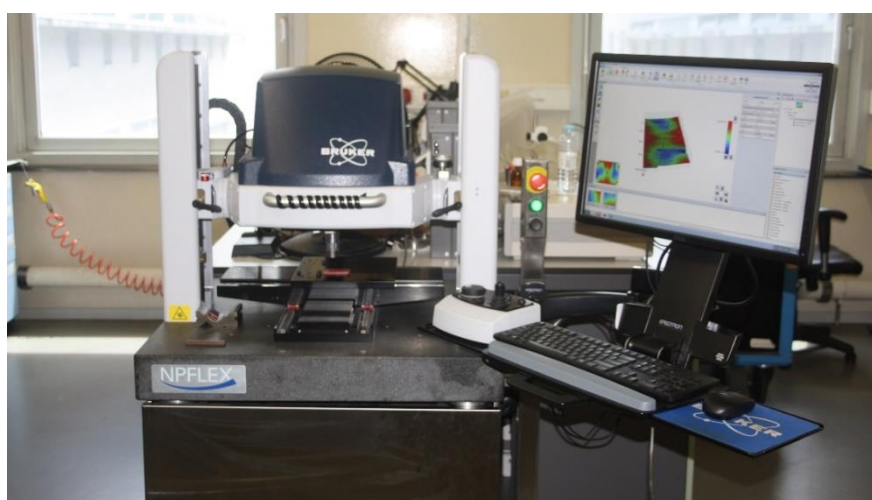


Figura 9. Rugosímetro 3D NPFLEX® utilizado para análise dos parâmetros de rugosidade.

O parâmetro Ra descreve a rugosidade média, ou seja, a média aritmética dos valores absolutos das ordenadas dos pontos do perfil de rugosidade em relação a linha média, dentro do percurso de medição. Este parâmetro é especificado em várias normas internacionais, apresenta várias vantagens, porém tem a desvantagem de não fornecer informações sobre a altura máxima dos picos e vales de rugosidade. Assim, foi criado um outro parâmetro para suprir esta deficiência, que é o Rz (rugosidade máxima), o qual fornece uma média da distância entre a altura dos picos mais altos e a profundidade dos vales mais profundos (32, 36-38).

Para ambos os parâmetros, e em cada grupo, foram calculados médias e desvios padrão.

2.3. Medição do ângulo de contacto

Quando um líquido é colocado numa superfície sólida, podem acontecer duas situações: ou o líquido se espalha, ou produz uma gota. Como se pode visualizar na Figura 10, forma-se um ângulo no contacto do líquido com a superfície sólida, resultante das várias tensões envolvidas (39). Este somatório de tensões superficiais é caracterizado como sendo a molhabilidade de um sólido por um líquido e é geralmente expresso pelo ângulo de contacto - θ .

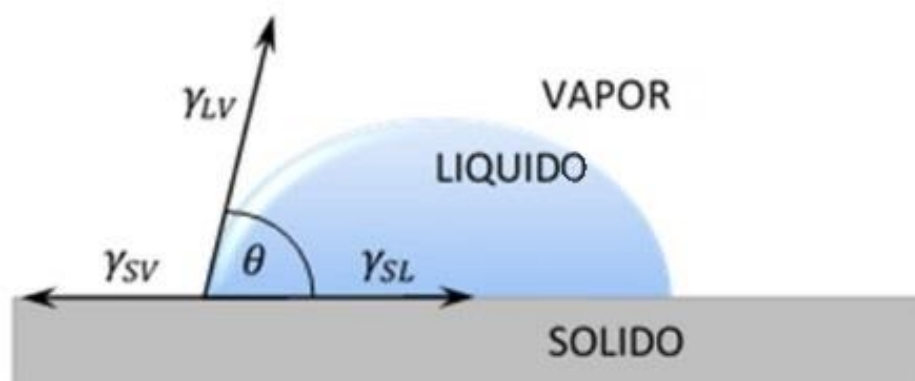


Figura 10. Tensões superficiais envolvidas na medida do ângulo de contacto: γ_{SL} – tensão superficial da interface sólido-líquido; γ_{SV} – tensão superficial da interface sólido-vapor; γ_{LV} – tensão superficial líquido-vapor. Adaptado de Liber-Knec, A, 2021.

A medição do ângulo de contacto consiste em gerar uma pequena gota sobre a superfície que se deseja estudar e observar o ângulo formado pela interface sólido-líquido-gás. Os principais pressupostos são:

- A gota é simétrica em relação um eixo vertical central, desta forma não importa a direção pela qual se observa a gota.
- A tensão interfacial e a gravidade são as únicas forças que atuam na moldagem da forma da gota (40).

Na Figura 11, observa-se a variação do ângulo de contacto e a molhabilidade. Quanto menor for o ângulo de contacto, maior será a molhabilidade do líquido no sólido. (41)

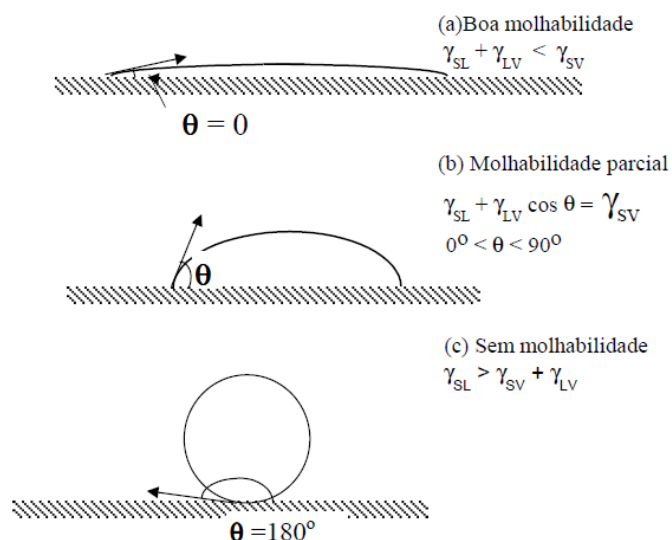


Figura 11. Variação do ângulo de contacto e da molhabilidade. Adaptado de ADAMSON, A. W., 1997.

Neste trabalho, foi utilizado um tensiómetro ótico *Contact angle system OCA15* (Dataphysics Instruments) – Figura 12 – para calcular o ângulo de contacto estático para cada material. Com recurso ao método da gota séssil, uma gota de 4 μ l de água foi colocada na superfície sólida (superfície polida dos espécimes), e uma imagem da gota foi gravada num computador acoplado ao sistema, onde são processados os dados para cálculo do ângulo de contacto.



Figura 12. Tensiómetro ótico *Contact angle system OCA15* (Dataphysics Instruments).

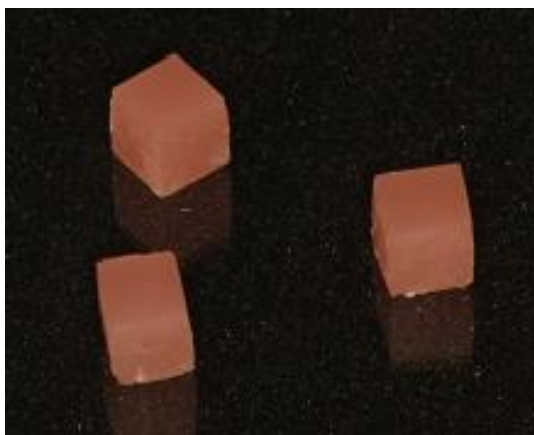
Para cada material foi calculado um valor médio e respetivo desvio padrão, baseados nas medições de ângulo de contacto em 10 a 25 locais dos espécimes (ver Anexo 2).

2.4. Avaliação da adesão de *C. albicans*

Para a avaliação microbiológica foram seguidos os seguintes passos: preparação de novos espécimes, cultura fúngica e quantificação das unidades formadoras de colónias (UFC).

2.4.1. Preparação dos espécimes

Para o estudo microbiológico foram avaliados provetes (n=27) de dimensão 4 x 4 x 5 mm (Figura 13) sendo 9 espécimes de cada material previamente referido. Os mesmos foram removidos com discos diamantados em baixa rotação da parte central de cada espécime inicial.



*Figura 13. Espécimes utilizados para avaliação da adesão de *C. albicans*.*

Os espécimes foram analisados visualmente para garantir que não possuíam deformações e a sua superfície lateral foi cuidadosamente aparada e uniformizada com bisturi e broca de polimento em baixa rotação.

Após a preparação, os espécimes foram colocados num banho de ultrassons (Sonorex, Bandelin), imersos individualmente em água destilada (Figura 14) por 4 períodos de 15 minutos e esterilizados por luz ultravioleta (Biosafe 2 - Ehret, Germany) (λ 250 nm) por 30 minutos.

2.4.2 Microrganismos e condições de cultura

Para os estudos de atividade antifúngica foi utilizada a levedura *C. albicans* ATCC 10231, obtida da American Type Culture Collection (ATCC).

A cultura stock congelada de *C. albicans* foi reativada em caldo Sabouraud dextrose broth - 2% glucose (Liofilchem) durante 24 horas a 37°C. Após esse período, a suspensão fúngica foi inoculada em placas de agar Sabouraud, que foram incubadas novamente durante 24 horas a 37°C. Após confirmada a pureza da cultura, 2 colônias da levedura foram inoculadas em 20 mL de caldo Sabouraud e incubadas durante a noite a 37°C, sob agitação constante (100 rpm), para permitir o crescimento da levedura.

Posteriormente, a suspensão de *C. albicans* foi ajustada em espectrofotômetro, a 600 nm (Jenway 6300), para uma densidade de 1×10^6 unidades formadoras de colônias (UFC)/mL, com base numa curva de calibração previamente realizada.

2.4.3. Adesão de *C. albicans*

Numa câmara assética de fluxo laminar (Biosafe 2 - Ehret), 9 espécimes de cada material, foram distribuídos em placas de cultura celular de 96 poços (Figura 14). De seguida, 100 µL da suspensão de *C. albicans* a 1×10^6 UFC/mL, previamente preparada, foi adicionada aos materiais e as placas foram colocadas a incubar a 37°C durante 24 horas, sob agitação a 100 rpm (Heraeus Instruments), para permitir a formação do biofilme.

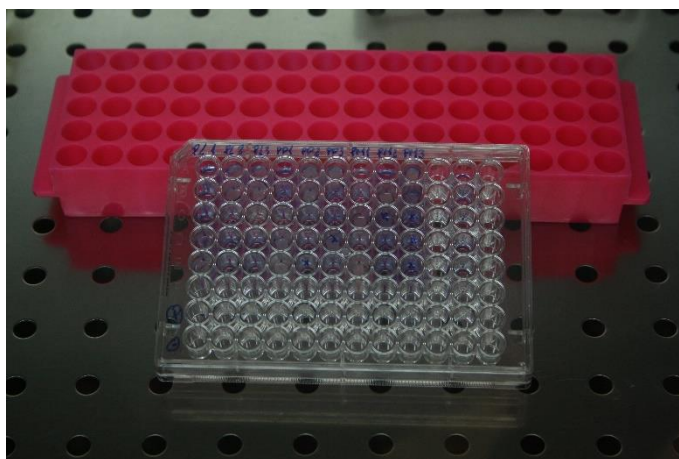


Figura 14. Espécimes distribuídos nos poços com o meio de cultura celular.

Após esse período, os espécimes foram removidos, lavados com PBS estéril por duas vezes, para remoção dos microrganismos não aderidos, e foram transferidos para eppendorf contendo 5 mL de PBS (Figura 15) e levados a banho de ultrassons (Sonorex, Bandelin) por 10 minutos, para desprendimento dos microrganismos aderidos.



Figura 15. Espécimes imersos em PBS para serem levados ao ultrassom.

Após agitação individual dos tubos de ensaio em agitador apropriado durante 20 segundos, efetuaram-se diluições decimais da suspensão obtida. Em seguida, uma alíquota de 10 µL de cada diluição foi inoculada em placas de Petri contendo Sabouraud dextrose agar (Liofilchem). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação, foi realizada a contagem do número de UFC. Para o cálculo das UFCs, foi considerada a diluição em que o número de UFC variou entre 10 e 50 colônias, sendo utilizada a fórmula:

$$UFC/mL = \frac{\text{número de colônias} \times 10^n \text{ (valor absoluto da diluição: 0,1,2,3 ou 4)}}{\text{quantidade de mL pipetada para cada diluição}}$$

2.5. Análise estatística

Os dados foram recolhidos e armazenados numa base de dados (Anexo 1) criada a partir do programa Excel® (Microsoft Office Plus Professional 2016, Microsoft, EUA) e a análise estatística foi efetuada utilizando o programa SPSS® v.28.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM, EUA), considerando apenas como diferença estatisticamente significativa quando $p < 0,05$.

O Teste de Shapiro-Wilk foi o utilizado para testar a normalidade das distribuições. Os testes paramétricos ANOVA (análise estatística da rugosidade Ra e ângulo de contacto), não paramétricos Kruskal-Wallis (análise estatística da rugosidade Rz e da adesão a *C. albicans*) e respetivas comparações múltiplas foram utilizados para análise dos resultados entre os grupos.

Resultados

3. Resultados

A superfície dos materiais foi avaliada no que se refere à rugosidade, ao ângulo de contacto e ainda à adesão de *C. albicans*. Os resultados são apresentados por ordem de realização dos ensaios.

3.1. Rugosidade de superfície

A superfície polida dos 9 espécimes foi analisada no rugosímetro ótico 3D NPFLEX (Bruker, Alemanha). No total realizou-se a leitura da rugosidade em 1200 x 1200 pontos de medição por espécime. Nas Figuras 16, 17 e 18 é possível observar uma reconstrução 3D da superfície de um espécime de cada grupo – PMMA, polipropileno e poliolefina, respetivamente. Assim, podem-se verificar diferenças no padrão da superfície polida com evidentes faixas mais uniformes nos espécimes de PMMA, quando comparada com os materiais termoplásticos em estudo.

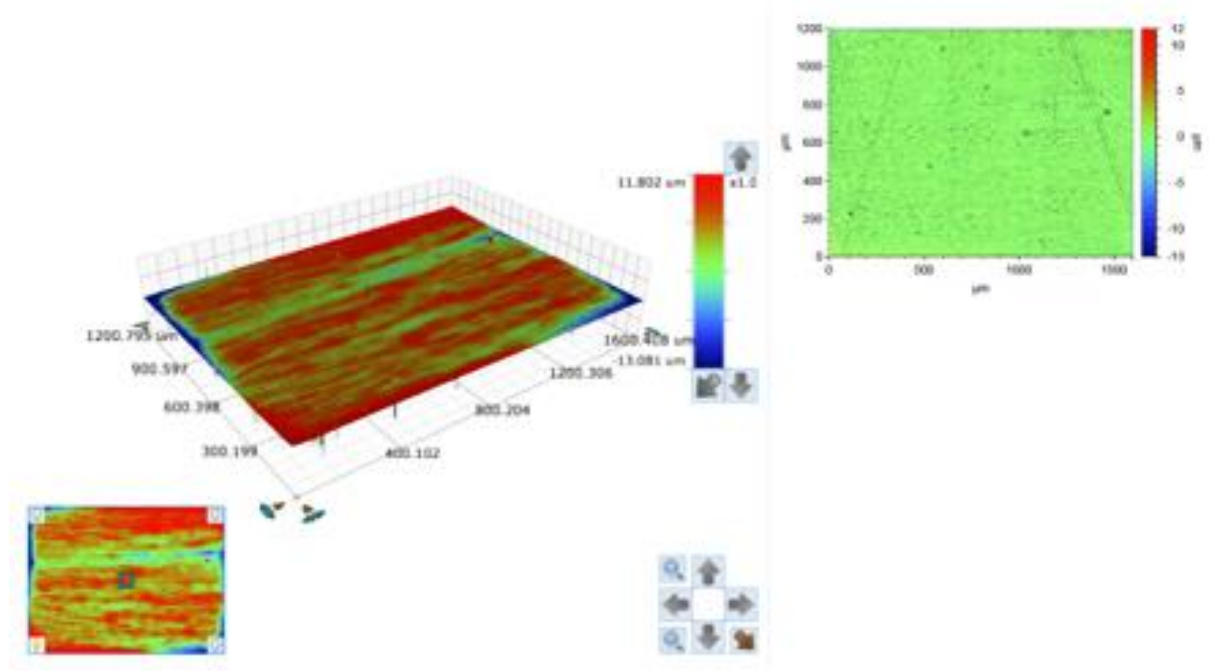


Figura 16. Reconstrução 3D da superfície de um espécime polido de PMMA.

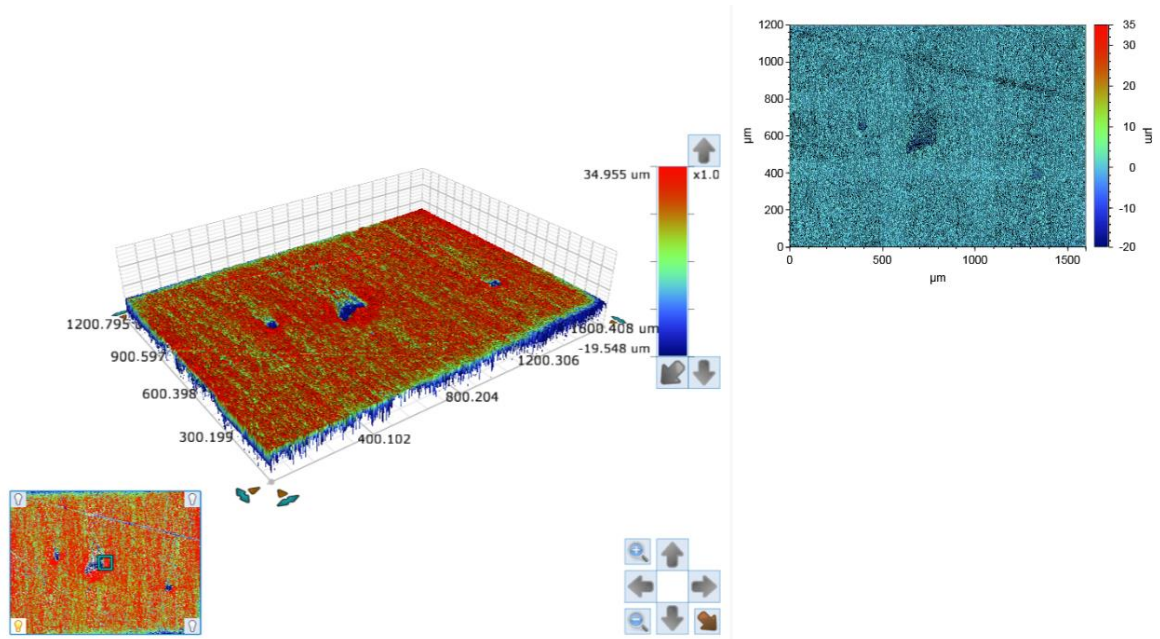


Figura 17. Reconstrução 3D da superfície de um espécime polido de polipropileno.

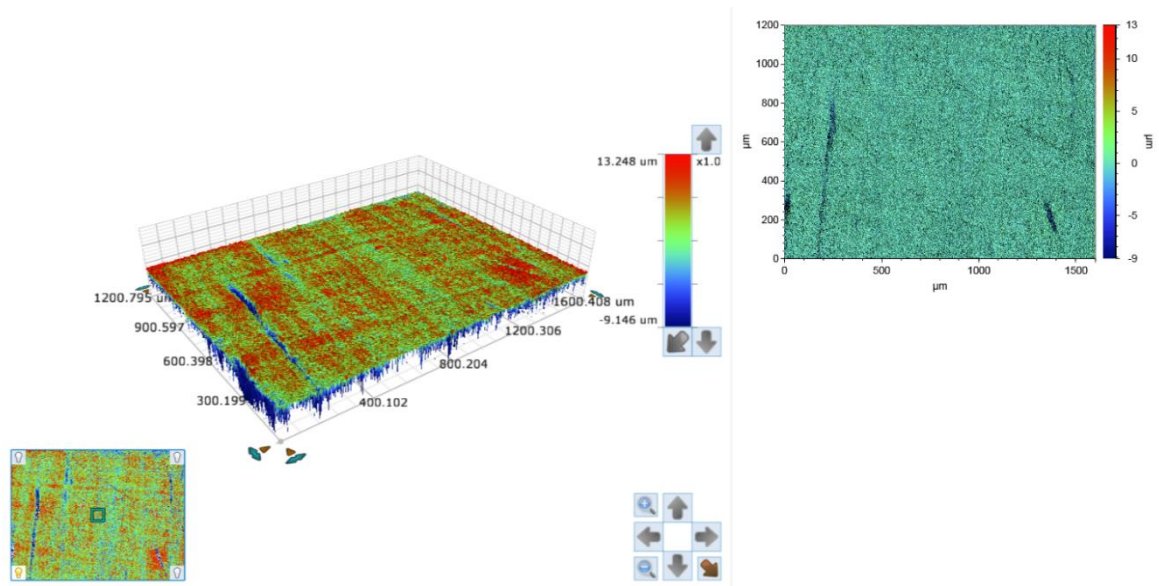


Figura 18. Reconstrução 3D da superfície de um espécime polido de poliolefina.

De acordo com a natureza dos dados obtidos no rugosímetro, procedeu-se à análise descritiva dos dados incluindo a média, a mediana e o desvio padrão (DP) do Ra e do Rz. (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão da rugosidade média (Ra) e da rugosidade máxima (Rz) por espécime e grupo.

Espécimes	Ra (μm)	Ra Média (DP)	Mediana	Rz (μm)	Rz Média (DP)	Mediana
PMMA 1	0,022	0,029 (0,006)	0,031	0,393	0,336 (0,028)	0,309
PMMA 2	0,033			0,309		
PMMA 3	0,031			0,307		
Poliolefina 1	0,154	0,146 (0,028)	0,154	0,895	1,570 (0,407)	1,621
Poliolefina 2	0,169			1,514		
Poliolefina 3	0,113			2,302		
Polipropileno 1	0,081	0,150 (0,072)	0,144	1,622	1,500 (0,213)	1,513
Polipropileno 2	0,144			1,794		
Polipropileno 3	0,225			1,085		

Legenda: DP - Desvio-padrão; PMMA - polimetilmetacrilato; Ra - rugosidade média; Rz – rugosidade máxima.

Os valores de Ra variam entre 0,022 μm no grupo PMMA e 0,225 μm no grupo polipropileno. Observa-se que os grupos dos materiais termoplásticos apresentam valores médios de Ra (0,150 μm para o polipropileno e 0,146 μm para a poliolefina) superiores ao PMMA. No que diz respeito ao Rz, os valores variam entre 0,307 μm no grupo do PMMA (mínimo) e 2,302 μm no grupo da poliolefina (máximo).

Nas Figuras 19 e 20 apresentam-se os gráficos para cada variável, sendo que o * assinala as diferenças estatisticamente significativas detetadas.

Pelo teste de Shapiro-Wilk, confirma-se a presença de normalidade ($p > 0,05$) da distribuição do Ra em todos os grupos. No teste ANOVA foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos grupos estudados ($p = 0,027$). Posteriormente, através de comparações múltiplas entre os grupos, verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre o grupo PMMA e o polipropileno ($p = 0,45$). No entanto, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a poliolefina e o PMMA, apesar do valor de $p = 0,052$ ser muito próximo do limiar para a significância estatística.

Por sua vez, o parâmetro Rz não segue uma distribuição normal no grupo do PMMA ($p = 0,041$) e, por isso, realizou-se um teste não-paramétrico Kruskal-Wallis para o qual não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados ($p = 0,066$).

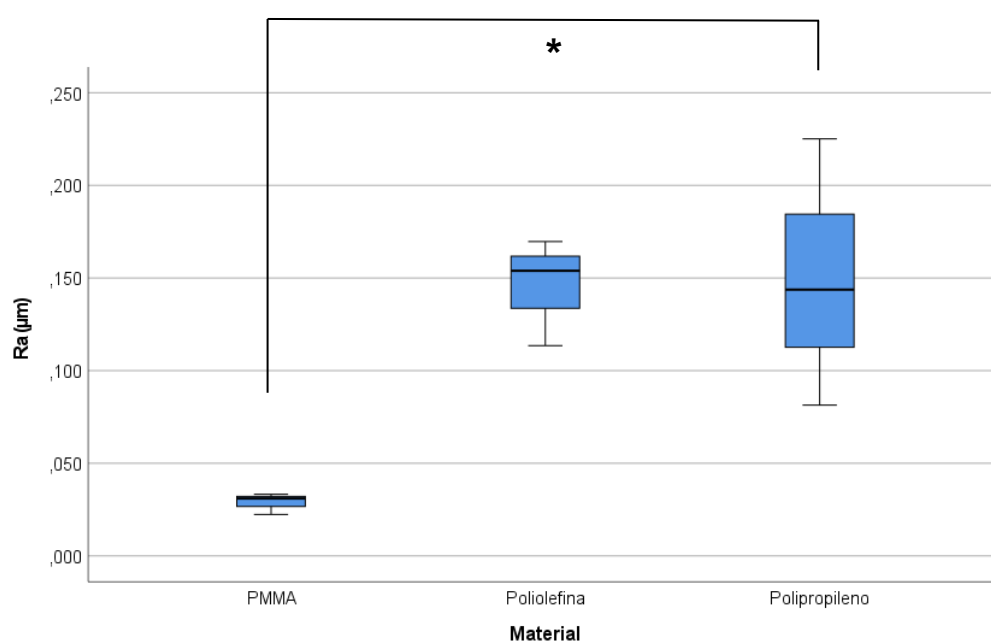


Figura 19. Gráfico da variável Rugosidade média (R_a) de cada grupo estudado.

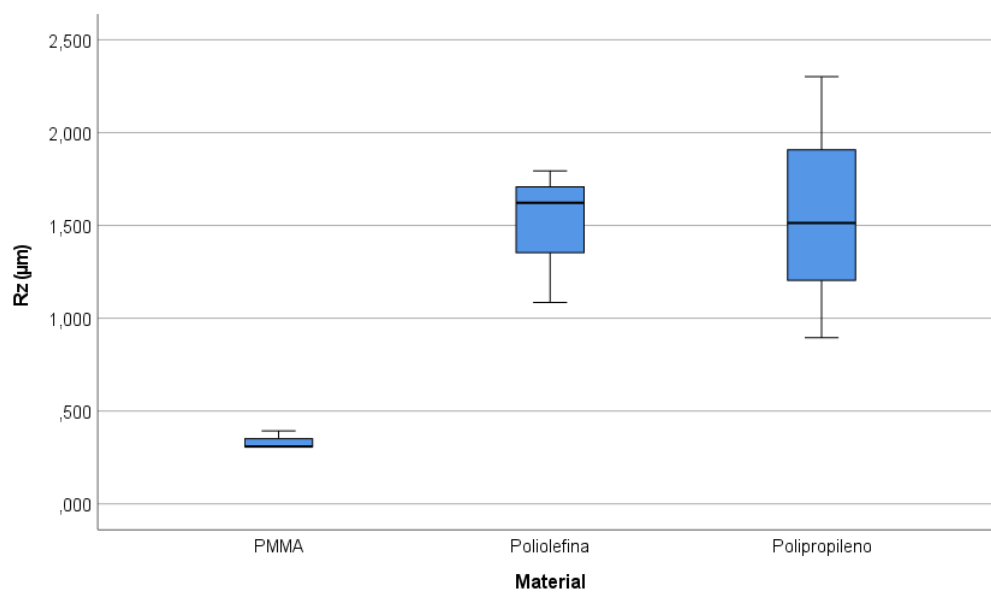


Figura 20. Gráfico da variável Rugosidade máxima (R_z) de cada grupo estudado.

Todos os resultados obtidos e respetivos testes estatísticos apresentam-se no Anexo 1.

3.2. Ângulo de contacto e molhabilidade

O ângulo de contacto de cada material foi calculado com recurso ao tensiómetro ótico Contact angle system OCA15 (Dataphysics Instruments), pelo método de gota sésil (água).

As imagens captadas pelo tensiómetro são automaticamente gravadas num computador acoplado ao sistema, onde são processados os dados para cálculo do ângulo de contacto. Na Figura 21 apresenta-se um exemplo de fotografia obtida para cada grupo ou material.

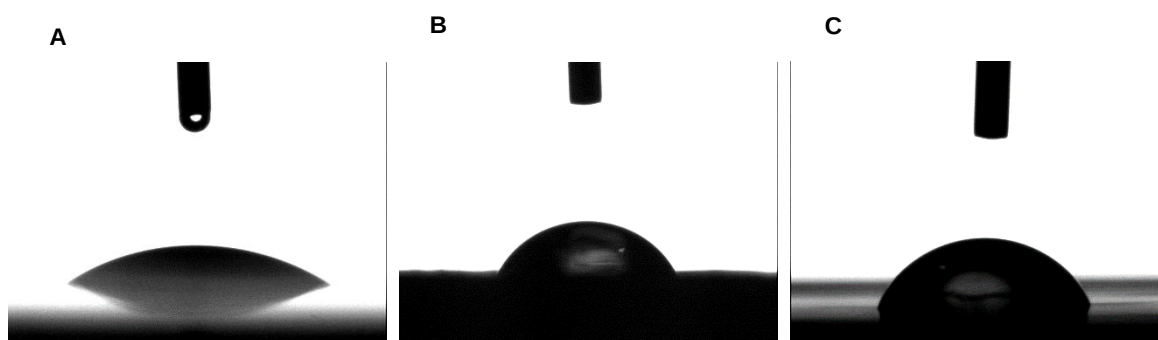


Figura 21. Fotografia do procedimento do ângulo de contacto por método de gota sésil: A – PMMA; B – polipropileno; C – poliolefina.

Para cada material foi calculado um valor médio e respetivo desvio padrão, baseados nas medições de ângulo de contacto em 10 a 25 locais dos espécimes (ver Anexo 2).

O valor médio observado para o PMMA ($26,572^{\circ} \pm 6,719$) é muito inferior ao observado para as resinas termoplásticas, sendo superior para a poliolefina ($69,062^{\circ} \pm 8,955$), por isso considerado um material com pior molhabilidade que o polipropileno ($57,569^{\circ} \pm 11,098$) (Figura 22).

A distribuição normal foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste ANOVA e o teste pos hoc de Scheffe foram executados para avaliar diferenças entre os ângulos de contacto dos materiais. Há evidência estatística suficiente, para afirmar que existe diferença estatisticamente significativa entre os 3 grupos no parâmetro de ângulo de contacto ($p < 0,001$).

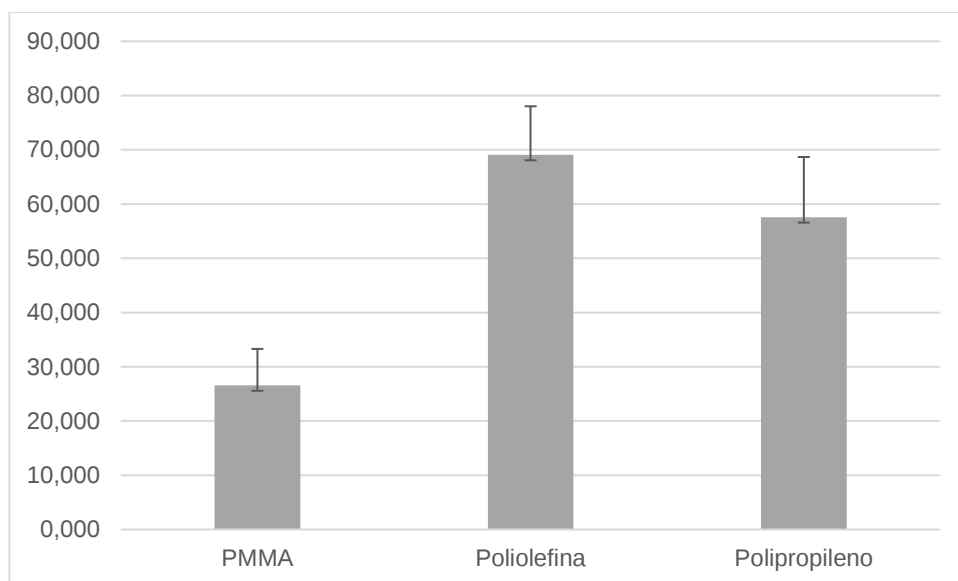


Figura 22. Valores médios e desvio padrão do ângulo de contacto (em graus) para cada material.

3.3 Adesão de *C. albicans*

Para a avaliação microbiológica foi realizada previamente a preparação de novos espécimes e a cultura fúngica de *C. albicans*. A quantificação do biofilme de *C. albicans* realizou-se através da cultura microbiológica de UFC/mL (Figura 23).

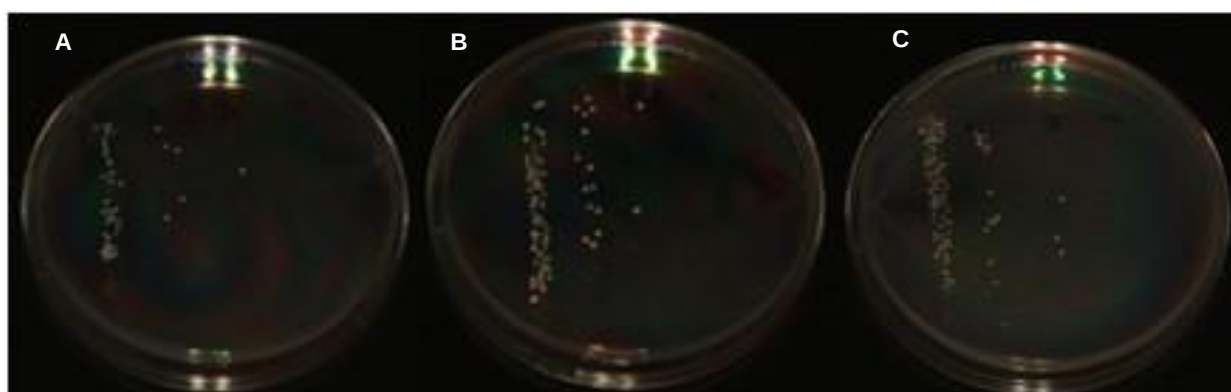


Figura 23. Cultura microbiológica de *C. albicans* para contagem das UFCs num espécime de PMMA (A), polipropileno (B) e poliolefina (C).

Os dados na Tabela 2 mostram maior adesão de *C. albicans* para os grupos das resinas termoplásticas (polipropileno e poliolefina) em comparação com o grupo do PMMA.

Tabela 2. Valores da média, mediana e desvio padrão da UFC/mL, para cada grupo ou material.

Material	Média (UFC/mL)	DP	Mediana (UFC/mL)
PMMA	57777	33082,39	50000
Polipropileno	145555	80173,42	140000
Polioléfina	134444	80017,36	100000

Legenda: PMMA - polimetilmetacrilato; UFC - unidade formadora de colônia; DP - Desvio-padrão.

Os dados obtidos através da cultura microbiológica (UFC/mL) para o grupo da poliolefina não seguem uma distribuição normal, verificado pelo teste de Shapiro-Wilk ($p=0,011$). O teste não-paramérico de Kruskal-Wallis evidencia que existem diferenças estatisticamente significativas na adesão de *C. albicans* entre os diversos grupos dos materiais ($p=0,011$), assinaladas com um * no gráfico (Figura 24).

O teste de Mann-Whitney U em combinação com o ajuste de Bonferroni foi usado para detetar diferenças entre os grupos (Anexo 4). Existem diferenças estatisticamente significativas na adesão de *C. albicans*, sendo esta superior nos materiais termoplásticos - poliolefina e polipropileno - em comparação com o PMMA ($p<0,05$). Entre a poliolefina e o polipropileno não existem diferenças estatisticamente significativas para a adesão de *C. albicans* ($p>0,05$).

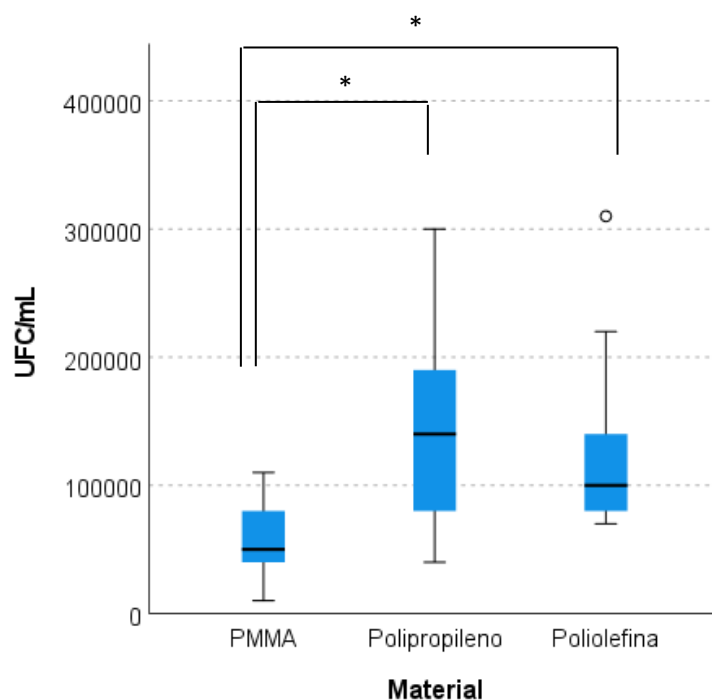


Figura 24. Comparação da adesão de *C. albicans* (UFC/mL) entre os grupos de materiais.

Discussão

4. Discussão

Esta investigação surge da necessidade do estudo da superfície dos materiais de base de prótese removível, particularmente no que se refere às atuais resinas termoplásticas (polipropileno e poliolefina) usadas em próteses flexíveis, comparando-as com o PMMA clássico confeccionado por técnica convencional (por muflagem). De facto, as características da superfície dos materiais de base de prótese podem ser determinantes no estabelecimento e desenvolvimento de placa microbiana e respetivas consequências deletérias para a saúde oral.

Uma das propriedades mais estudadas relativas aos materiais de bases de próteses dentárias é a rugosidade. Superfícies rugosas facilitam a pigmentação da prótese e podem ser uma fonte de desconforto para o paciente. Por outro lado, diversas espécies de fungos e bactérias têm maior propensão a aderir em materiais de base de prótese mais rugosos, favorecendo a colonização microbiana e a formação de biofilme (13, 21). Se tais superfícies mais ásperas forem expostas ao ambiente oral, elas podem ser mais suscetíveis por um lado à adesão de microrganismos, mas também à formação de biofilme, aumentando a possibilidade do aparecimento de infeções (42). Assim, vários autores referem o papel da rugosidade da superfície no processo de adesão microbiana inicial, ou seja, considera-se que a rugosidade da superfície está positivamente correlacionada com a taxa de colonização bacteriana / fúngica de biomateriais (13, 21, 43). Para minimizar estes problemas, antes da sua utilização na clínica procede-se ao polimento das bases das próteses, com o objetivo de produzir uma superfície lisa e brilhante pela remoção gradual de camadas rugosas da superfície, de forma incremental, dificultando, assim, a formação de placa microbiana (10, 44).

No presente estudo a rugosidade de superfície dos materiais foi avaliada com um rugosímetro ótico e foram escolhidos para análise os indicadores Ra (rugosidade média) e Rz (rugosidade máxima), por se basearem na medida de profundidade da rugosidade, mas também por serem os mais utilizados na literatura. Para além disso, esses indicadores fornecem valores médios, ou seja, apresentam-se como um bom parâmetro estatístico para caracterizar a distribuição de amplitude. O Ra e o Rz representam a rugosidade geral da superfície dos espécimes e fornecem informação quantitativa sobre a textura superficial.

Em muitos dos estudos anteriores, o Ra foi o único parâmetro de rugosidade considerado (13, 24, 26, 27, 43, 45-50), no entanto neste trabalho, tal como no de outros autores, optou-se por medir ambos os valores (Ra e Rz) com o intuito de aumentar a precisão da avaliação (51).

De acordo com os resultados deste estudo, após a realização do polimento a todos os espécimes, observou-se que os espécimes das resinas termoplásticas estudadas - polipropileno e poliolefina - apresentaram uma superfície mais rugosa do que o PMMA. As diferenças nos valores de Ra das superfícies polidas encontrados entre os grupos PMMA e resinas termoplásticas são estatisticamente significativas ($p=0,027$), o que pode ser devido às diferenças nas propriedades físicas dos materiais. Particularizando para cada material, verificou-se a existência de diferenças estatisticamente significativas entre o grupo PMMA e o polipropileno ($p=0,45$), sendo a diferença entre a poliolefina e o PMMA muito próxima do limiar para a significância estatística ($p=0,052$). Já entre os materiais termoplásticos, polipropileno e poliolefina, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Refira-se que para além da média da rugosidade ser superior nos materiais termoplásticos em comparação com o PMMA, o desvio padrão também é elevado, dado este que estará relacionado com uma menor homogeneidade de superfície nos espécimes das resinas termoplásticas. Os materiais termoplásticos têm sido relatados como sendo de difícil acabamento e polimento devido à sua baixa temperatura de fusão, pelo que se recomenda um ajuste cuidadoso e mínimo nestas próteses após o processamento (52).

Não é fácil fazer comparações diretas dos valores de rugosidade de superfície (Ra e Rz) encontrados neste estudo com os resultados de outros trabalhos, devido às variações no procedimento experimental, na metodologia utilizada para o polimento, bem como na medição da rugosidade da superfície. Para além disso, a diversidade do tipo de materiais PMMA, bem como de outros tipos de materiais termoplásticos usados nas diferentes investigações (10, 42) dificultam ainda mais as comparações, sendo, por isso, expectável encontrar um diferencial nos valores de Ra e Rz entre os vários autores (2).

Em diversos estudos prévios sobre adesão e formação de biofilme de *C. albicans* para materiais de base de próteses, o parâmetro escolhido para representar a rugosidade foi a rugosidade média (Ra) (13, 24, 26, 27, 43, 45-50). De acordo com a literatura, existe um limiar de rugosidade de superfície de materiais dentários usados

na cavidade oral de $Ra=0,2\ \mu\text{m}$, valor abaixo do qual é esperada uma menor colonização microbiana (21, 28, 53-55). Após os protocolos de polimento aplicados aos diferentes materiais usados neste estudo, todos os espécimes testados apresentaram uma rugosidade superficial abaixo do limite de $0,2\ \mu\text{m}$, com exceção de um espécime de polipropileno, cujo Ra foi de $0,225\ \mu\text{m}$, pelo que se admite que apesar da diferença estatisticamente significativa encontrada entre o PMMA e os materiais termoplásticos, não será de esperar que uma maior adesão de *C. albicans* nestes materiais seja clinicamente significativa.

Outro valor avaliado no presente estudo foi o ângulo de contacto, uma vez que permite determinar outra característica fundamental da superfície dos materiais de base de prótese: a tensão superficial ou energia livre de superfície. Usa-se, também, para determinar a hidrofobicidade da superfície e caracterizar a molhabilidade que ocorre quando um líquido não volátil, como a água, entra em contacto com uma superfície sólida. Quando o líquido se espalha completamente, o que ocorre nas superfícies muito hidrofílicas, o ângulo de contacto é zero. Este vai aumentando à medida que se observa mais dificuldade no espalhamento do líquido, mantendo a forma de gota, o que acontece em superfícies cada vez mais hidrofóbicas (56).

De acordo com a literatura (57), materiais com um ângulo de contacto superior a 65° são considerados muito hidrofóbicos. Alguns autores consideram que materiais hidrofóbicos são mais resistentes à ação da água ou a espécimes de microrganismos solúveis em água (58-60), mas a relação entre o ângulo de contacto e a adesão bacteriana ainda é controversa (58, 61).

Os resultados deste estudo mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os materiais testados relativamente ao ângulo de contacto ($p<0,05$), sendo que em média o PMMA expressou o menor ângulo de contacto ($26,57^\circ$), seguido do polipropileno ($57,57^\circ$) e da poliolefina ($69,06^\circ$). O maior ângulo de contacto das resinas termoplásticas, bem como a sua maior hidrofobicidade, podem ser atribuídos à maior área superficial apresentada por superfícies rugosas, aumentando o contacto entre a gota (água) e os grupos funcionais do material e, assim, intensificando as forças de interação.

Estes resultados são compatíveis com trabalhos anteriores, como os de Monsenego *et al.*, que verificaram que o ângulo de contacto para as resinas acrílicas

de prótese jateadas era superior ao das superfícies preparadas e não jateadas (62). O aumento da rugosidade das superfícies jateadas e a reorientação das cadeias superficiais de polímeros provocadas pelo procedimento de jateamento podem explicar esses resultados. Nishioka *et al.* também observaram que os valores do ângulo de contacto diminuía à medida que reduzia a rugosidade superficial dos espécimes de resina acrílica de prótese (63).

Relativamente à adesão de *C. albicans*, os resultados da presente investigação revelam a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os materiais estudados, sendo esta superior nos materiais termoplásticos - poliolefina e polipropileno - em comparação com o PMMA ($p < 0,05$). Entre a poliolefina e o polipropileno não existem diferenças estatisticamente significativas para a adesão microbiana ($p > 0,05$).

Determinadas propriedades da superfície de materiais, como rugosidade e tensão superficial (quantificada pelo ângulo de contacto), podem interferir quer na colonização microbiana quer na maturação do biofilme (73, 74, 96). A adesão inicial dos microrganismos é diretamente influenciada pela rugosidade superficial (97) e, como já foi referido, diversos estudos sugerem que uma rugosidade superficial superior a $0,2 \mu\text{m}$ aumenta a adesão de microrganismos, o que é considerado um valor crítico de rugosidade para resinas acrílicas (24, 25, 29, 33, 4, 55). A adesão de microrganismos ocorre mais rapidamente em superfícies rugosas devido à sua maior área de contacto e também por obstruir a ação de limpeza mecânica (41). No entanto, outros estudos não encontraram relação entre a adesão de *C. albicans* e a rugosidade da resina acrílica (68, 76).

Segundo vários autores, a capacidade de microrganismos aderirem aos materiais relaciona-se com a força eletrostática, e esta encontra-se mais expressiva em superfícies que apresentam não só maior rugosidade, mas também maior tensão superficial (representada com um maior ângulo de contacto) (49, 64-66). Outros estudos mostraram que existe uma relação entre a adesão de *C. albicans* a várias superfícies com diferentes rugosidade superficial e energia livre de superfície (ou tensão superficial). A relação direta entre estes três fatores (rugosidade, ângulo de contacto e adesão de *C. albicans*), contudo, não é consensual (58, 61).

No presente estudo, verificou-se que a rugosidade de superfície dos materiais, o seu ângulo de contacto e a adesão de *C. albicans* à superfície do material variaram no mesmo sentido. De acordo com os resultados, a rugosidade superficial e o ângulo de contacto foram maiores nos materiais termoplásticos em comparação com o PMMA. Também foi nestes materiais que se registou uma maior adesão de *C. albicans*. Por outro lado, constatou-se que o PMMA apresentou menor rugosidade, menor ângulo de contacto e menor adesão de *C. albicans* que o polipropileno e a poliolefina.

Uma das limitações desta investigação prende-se com o facto de terem sido utilizados espécimes que na sua forma não mimetizam uma prótese dentária, sendo importante realçar que o polimento desses materiais na prática clínica estaria sujeito a outros condicionalismos. Por exemplo, o polimento de uma prótese não é realizado em superfícies completamente planas e a velocidade recomendada e a pressão de um polidor rotativo nem sempre são fáceis de padronizar (2). Por isso, apesar do valor de Ra aceitável dos materiais termoplásticos polidos convencionalmente, como mostrado neste estudo, uma maior variabilidade dos valores de Ra pode ser esperada na prática clínica. A variabilidade entre diferentes operadores também pode ocorrer, embora esse fator tenha sido minimizado neste estudo ao limitar-se a um único operador.

O facto de se ter utilizado água em vez de saliva na determinação do ângulo de contacto, também pode ser considerado uma limitação do estudo, apesar de que a inclusão de saliva traria muitos outros fatores possivelmente confundidores para este estudo (67). Ainda que a saliva não tenha as mesmas características em todos os indivíduos, a utilização de saliva artificial teria aproximado esta avaliação da realidade clínica.

Finalmente, esta investigação limitou-se ao estudo da adesão de *C. albicans*, não tendo sido possível avaliar a importância da presença de outros microrganismos. Apesar da *C. albicans* ser um fungo de particular importância em diversas situações patológicas da cavidade oral, nomeadamente na estomatite protética (14), o biofilme que adere às superfícies das próteses dentária é constituído por diversos microrganismos que interagem e podem intervir ativamente no processo de adesão da *C. albicans* (68-72).

Outras investigações com monitorização e padronização do polimento, envelhecimento das amostras e avaliação da adesão microbiana em saliva são

necessárias para melhor compreender as propriedades de superfície (rugosidade e tensão superficial) dos materiais de base de prótese removível e a sua influência na formação de biofilme e colonização por *C. albicans*.

Conclusão

5. Conclusão

Todas as hipóteses nulas deste trabalho de investigação foram rejeitadas, dado que:

- a rugosidade de superfície dos materiais termoplásticos testados, e após polimento recomendado executado por um único operador, é superior à observada com o PMMA convencional;
- os valores do ângulo de contacto dos materiais termoplásticos são muito superiores aos do PMMA, sugerindo que esses mesmos materiais são mais hidrofóbicos;
- a adesão de *C. albicans* à superfície dos materiais termoplásticos foi significativamente superior à observada no PMMA.

Embora sejam desejáveis mais estudos, nos quais se avaliem outras condições e diferentes parâmetros, é possível concluir que, nas condições desta investigação e para os materiais estudados, o PMMA apresenta menor rugosidade, menor ângulo de contacto e menor adesão de *C. albicans* que o polipropileno e a poliolefina, confirmando-se como material de primeira escolha no fabrico de próteses dentárias removíveis em resina.

A possível relação com uma maior proliferação microbiana em meio salivar, torna o estudo da superfície dos materiais de base de prótese dentária pertinente do ponto de vista clínico e motiva a realização de mais estudos futuros.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

1. Alammari MR. The influence of polishing techniques on pre-polymerized CAD\CAM acrylic resin denture bases. *Electron Physician*. 2017;9(10):5452-8.
2. Abuzar MA, Bellur S, Duong N, Kim BB, Lu P, Palfreyman N, et al. Evaluating surface roughness of a polyamide denture base material in comparison with poly (methyl methacrylate). *J Oral Sci*. 2010;52(4):577-81.
3. Shah J, Bulbule N, Kulkarni S, Shah R, Kakade D. Comparative evaluation of sorption, solubility and microhardness of heat cure polymethylmethacrylate denture base resin & flexible denture base resin. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(8):ZF01-4.
4. Mohammadibassir M, Rezvani MB, Golzari H, Moravej Salehi E, Fahimi MA, Kharazi Fard MJ. Effect of Two Polishing Systems on Surface Roughness, Topography, and Flexural Strength of a Monolithic Lithium Disilicate Ceramic. *J Prosthodont*. 2019;28(1):e172-e80.
5. Fueki K, Ohkubo C, Yatabe M, Arakawa I, Arita M, Ino S, et al. Clinical application of removable partial dentures using thermoplastic resin—Part I: Definition and indication of non-metal clasp dentures. *J Prosthodont Res*. 2014;58(1):3-10.
6. Iwata Y. Assessment of clasp design and flexural properties of acrylic denture base materials for use in non-metal clasp dentures. *J Prosthodont Res*. 2016;60(2):114-22.
7. Abhay PN, Karishma S. Comparative evaluation of impact and flexural strength of four commercially available flexible denture base materials: an in vitro study. *J Indian Prosthodont Soc*. 2013;13(4):499-508.
8. Shah J, Bulbule N, Kulkarni S, Shah R, Kakade D. Comparative evaluation of sorption, solubility and microhardness of heat cure polymethylmethacrylate denture base resin & flexible denture base resin. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(8):ZF01-ZF4.
9. Fueki K, Ohkubo C, Yatabe M, Arakawa I, Arita M, Ino S, et al. Clinical application of removable partial dentures using thermoplastic resin. Part II: Material properties and clinical features of non-metal clasp dentures. *J Prosthodont Res*. 2014;58(2):71-84.
10. Kuhar M, Funduk N. Effects of polishing techniques on the surface roughness of acrylic denture base resins. *J Prosthet Dent*. 2005;93(1):76-85.
11. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in a constant depth film fermentor. *J Appl Microbiol* 2001;91(1):47-53.
12. Yamauchi M, Yamamoto K, Wakabayashi M, Kawano J. In vitro adherence of microorganisms to denture base resin with different surface texture. *Dent Mater J*. 1990;9(1):19-24.
13. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent*. 1998;26(7):577-83.
14. Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *J Oral Rehabil*. 2007;34(6):448-55.
15. Sanitá PV, Pavarina AC, Giampaolo ET, Silva MM, Mima EG, Ribeiro DG, et al. *Candida* spp. prevalence in well controlled type 2 diabetic patients with denture stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;111(6):726-33.
16. Ramage G, Martínez JP, López-Ribot JL. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS Yeast Res*. 2006;6(7):979-86.
17. Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol*. 2001;183(18):5385-94.
18. Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1999;10(1):99-116.

19. Nair RG, Samaranayake LP. The effect of oral commensal bacteria on candidal adhesion to denture acrylic surfaces. An in vitro study. *Apmis*. 1996;104(5):339-49.
20. Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z, Bronshteyn M, Kopolovic K. In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil*. 1998;25(1):52-8.
21. Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man. *J Clin Periodontol*. 1990;17(3):138-44.
22. Gomes AS, Sampaio-Maia B, Vasconcelos M, Fonesca PA, Figueiral H. In situ evaluation of the microbial adhesion on a hard acrylic resin and a soft liner used in removable prostheses. *Int J Prosthodont*. 2015;28(1):65-71.
23. Simões RJ, Fonseca P, Figueiral MH. Infecções por *Candida* spp na Cavidade Oral. *Odontol Clín-Cien*. 2013;12(1):19-22.
24. Nevzatoğlu EU, Ozcan M, Kulak-Ozkan Y, Kadir T. Adherence of *Candida albicans* to denture base acrylics and silicone-based resilient liner materials with different surface finishes. *Clin Oral Investig*. 2007;11(3):231-6.
25. Pereira-Cenci T, Cury AA, Cenci MS, Rodrigues-Garcia RC. In vitro *Candida* colonization on acrylic resins and denture liners: influence of surface free energy, roughness, saliva, and adhering bacteria. *Int J Prosthodont*. 2007;20(3):308-10.
26. Verran J, Maryan CJ. Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *J Prosthet Dent*. 1997;77(5):535-9.
27. Taylor R, Maryan C, Verran J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. *J Prosthet Dent*. 1998;80(5):592-7.
28. Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater*. 1997;13(4):258-69.
29. International Standard ISO Specification 20795-1: Dentistry - Base polymers - Part 1: Denture base polymers. International Organization for Standardization 2013. 1st edition.
30. de Groot P. Phase Shifting Interferometry. In: Leach R, editor. *Optical Measurement of Surface Topography*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 167-86.
31. Novak E, Schmit J. White-light optical profiler with integrated primary standard. *Proceedings, XVII IMEKO World Congress Metrology*. 2003.
32. Mummery L. *Surface Texture Analysis: The Handbook*: Hommelwerke GmbH; 1992.
33. Nova Analitica L. About optical rugosimeter 2020 [Available from: www.analiticaweb.com.br/microscopia-eletronica].
34. Lonardo P, Lucca D, Chiffre L. Emerging Trends in Surface Metrology. *Cirp Annals-manufacturing Technology - CIRP ANN-MANUF TECHNOL*. 2002;51:701-23.
35. Person U. A fibre-optic surface-roughness sensor. *journal of Materials processing technology*. 1999;95:107-11.
36. Zissis AJ, Polyzois GL, Yannikakis SA, Harrison A. Roughness of denture materials: a comparative study. *Int J Prosthodont*. 2000;13(2):136-40.
37. International Standard ISO Specification 4287: Geometrical Product Specifications (GPS) — Surface texture: Profile method — Terms, definitions and surface texture parameters. International Organization for Standardization. 1997. 1 st edition.
38. International Standard ISO Specification 25178-603: Geometrical product specifications (GPS) — Surface texture: Areal — Part 603: Nominal characteristics of non-contact (phase-shifting interferometric microscopy) instruments. International Organization for Standardization 2013. 1st edition.
39. Liber-Kneć A, Łagan S. Surface Testing of Dental Biomaterials-Determination of Contact Angle and Surface Free Energy. *Materials (Basel)*. 2021;14(11).
40. Woodward RP. First Ten Angstroms Inc. (2011, July 20). Contact Angle Measurements Using the Drop Shape Method. [Online]. Available: www.firsttenangstroms.com/pdfdocs/CAPaper.pdf
41. Adamson AW. *Physical Chemistry of Surfaces* Interscience. 3ª Ed. ed. Nova York, N. Y.1997.

42. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM. Development of Candida-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(2):86-94.
43. Mayahara M, Kataoka R, Arimoto T, Tamaki Y, Yamaguchi N, Watanabe Y, et al. Effects of surface roughness and dimorphism on the adhesion of *Candida albicans* to the surface of resins: scanning electron microscope analyses of mode and number of adhesions. *J Investig Clin Dent.* 2014;5(4):307-12.
44. S S, Nair C, Shetty J. Effect of Different Polishing Agents on Surface Finish and Hardness of Denture Base Acrylic Resins: A Comparative Study. *International Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry.* 2011;1:7-11.
45. Nikawa H, Jin C, Makihiro S, Egusa H, Hamada T, Kumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *J Oral Rehabil.* 2003;30(3):243-50.
46. Lamfon H, Porter SR, McCullough M, Pratten J. Formation of *Candida albicans* biofilms on non-shedding oral surfaces. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(6):465-71.
47. Odagiri K, Sawada T, Hori N, Seimiya K, Otsuji T, Hamada N, et al. Evaluation of denture base resin after disinfection method using reactive oxygen species (ROS). *Dent Mater J.* 2012;31(3):443-8.
48. Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Bürgers R. In vitro evaluation of artificial ageing on surface properties and early *Candida albicans* adhesion to prosthetic resins. *J Mater Sci Mater Med.* 2009;20(1):249-55.
49. Zamperini CA, Machado AL, Vergani CE, Pavarina AC, Giampaolo ET, da Cruz NC. Adherence in vitro of *Candida albicans* to plasma treated acrylic resin. Effect of plasma parameters, surface roughness and salivary pellicle. *Archives of Oral Biology.* 2010;55(10):763-70.
50. Zamperini CA, Machado AL, Vergani CE, Pavarina AC, Rangel EC, Cruz NC. Evaluation of fungal adherence to plasma-modified polymethylmethacrylate. *Mycoses.* 2011;54(5):e344-51.
51. Özcan M, Bernasconi M. Adhesion to Zirconia Used for Dental Restorations: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Adhes Dent.* 2015;17(1):7-26.
52. Vojdani M, Giti R. Polyamide as a Denture Base Material: A Literature Review. *J Dent (Shiraz).* 2015;16(1 Suppl):1-9.
53. Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(3):201-11.
54. Moura JS, da Silva WJ, Pereira T, Del Bel Cury AA, Rodrigues Garcia RC. Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four *Candida* species. *J Prosthet Dent.* 2006;96(3):205-11.
55. Li J, Hirota K, Goto T, Yumoto H, Miyake Y, Ichikawa T. Biofilm formation of *Candida albicans* on implant overdenture materials and its removal. *J Dent.* 2012;40(8):686-92.
56. Ramiasa M, Ralston J, Fetzer R, Sedev R. The influence of topography on dynamic wetting. *Adv Colloid Interface Sci.* 2014;206:275-93.
57. Vogler EA. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science.* 1998;74(1):69-117.
58. 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.
59. Eick JD, Kotha SP, Chappelow CC, Kilway KV, Giese GJ, Glaros AG, et al. Properties of silorane-based dental resins and composites containing a stress-reducing monomer. *Dent Mater.* 2007;23(8):1011-7.
60. Weinmann W, Thalacker C, Guggenberger R. Siloranes in dental composites. *Dent Mater.* 2005;21(1):68-74.
61. Gyo M, Nikaido T, Okada K, Yamauchi J, Tagami J, Matin K. Surface response of fluorine polymer-incorporated resin composites to cariogenic biofilm adherence. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(5):1428-35.
62. Monsénégó P, Baszkin A, Costa ML, Lejoyeux J. Complete denture retention. Part II: Wettability studies on various acrylic resin denture base materials. *J Prosthet Dent.* 1989;62(3):308-12.

63. Nishioka M, Yamabe Y, Hisatsune K, Fujii H. Influence of polishing of denture base resin and metal surfaces on wettability with water and saliva. *Dent Mater J.* 2006;25(1):161-5.
64. Satpathy A, M RD, Gujjari AK. An Evaluation of the Adherence of *Candida albicans* on the Surface of Heat Cure Denture Base Material Subjected to Different Stages of Polishing. *J Clin Diagn Res.* 2013;7(10):2360-3.
65. Gungor H, Gundogdu M, Yesil Duymus Z. Investigation of the effect of different polishing techniques on the surface roughness of denture base and repair materials. *J Prosthet Dent.* 2014;112(5):1271-7.
66. 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.
67. Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *J Dent.* 2001;29(3):197-204.
68. Millsap KW, Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ. Adhesion and surface-aggregation of *Candida albicans* from saliva on acrylic surfaces with adhering bacteria as studied in a parallel plate flow chamber. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1999;75(4):351-9.
69. Budtz-Jørgensen E. Clinical aspects of *Candida* infection in denture wearers. *J Am Dent Assoc.* 1978;96(3):474-9.
70. Gusberti FA, Gada TG, Lang NP, Geering AH. Cultivable microflora of plaque from full denture bases and adjacent palatal mucosa. *J Biol Buccale.* 1985;13(3):227-36.
71. Catalan A, Herrera R, Martinez A. Denture plaque and palatal mucosa in denture stomatitis: scanning electron microscopic and microbiologic study. *J Prosthet Dent.* 1987;57(5):581-6.
72. Koopmans AS, Kippuw N, de Graaff J. Bacterial involvement in denture-induced stomatitis. *J Dent Res.* 1988;67(9):1246-50.

Anexos

Anexos

Anexo 1 – Resultados Rugosimetria

DataSetName	Standard Used	Image Width	Image Height	Long Cutoff μm	Ra μm	Rz μm	Rsk
PF_1.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,153915	1,62178	-0,98216
PF_2.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,169723	1,793808	-0,56883
PF_3.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,113526	1,085018	-0,59317
PMMA_1.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,022401	0,393335	0,03209
PMMA_2.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,033301	0,30911	0,085912
PMMA_3.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,031005	0,306995	0,31261
PP_1.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,08142	0,89525	-0,12549
PP_2.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,143782	1,513712	-0,6704
PP_3.OPDx	ISO	1634	1226	250	0,225158	2,301771	-0,56303

ANOVA					
Ra	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	,028	2	,014	7,010	,027
Nos grupos	,012	6	,002		
Total	,040	8			

Comparações múltiplas

Variável dependente: Ra

Scheffe

(I) Material	(J) Material	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
PMMA	Poliolefina	-,116819000	,036721758	,052	-,23459516	,00095716
	Polipropileno	-,121218000*	,036721758	,045	-,23899416	-,00344184
Poliolefina	PMMA	,116819000	,036721758	,052	-,00095716	,23459516
	Polipropileno	-,004399000	,036721758	,993	-,12217516	,11337716
Polipropileno	PMMA	,121218000*	,036721758	,045	,00344184	,23899416
	Poliolefina	,004399000	,036721758	,993	-,11337716	,12217516

*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

Teste Shapiro-Wilk para os valores médios da rugosidade média aritmética (Ra) e a média das alturas máximas do perfil de rugosidade (Rz) de cada grupo estudado.

Testes de Normalidade^{a,c}

	Material	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
Ra	PMMA	,309	3	.	,900	3	,384
	Poliiolef	,278	3	.	,940	3	,528
	Poliprop	,202	3	.	,994	3	,854
Rz	PMMA	,377	3	.	,768	3	,041
	Poliiolef	,296	3	.	,919	3	,448
	Poliprop	,199	3	.	,995	3	,867

a. Não há casos válidos para Ra quando Material = ,000. As estatísticas não podem ser calculadas para esse nível.

b. Correlação de Significância de Lilliefors

c. Não há casos válidos para Rz quando Material = ,000. As estatísticas não podem ser calculadas para esse nível.

Teste ANOVA Rugosidade media aritmética (Ra)

Disposição em subconjuntos realizada pelo SPSS demonstrando proximidades entre os valores obtidos.

Ra

Scheffe^a

Material	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
PMMA	3	,02890167	
Poliiolefina	3	,14572067	,14572067
Polipropileno	3		,15011967
Sig.		,052	,993

São exibidas as médias para os grupos em subconjuntos homogêneos.

a. Usa o Tamanho da Amostra de Média Harmônica = 3,000.

Estatísticas de teste^{a,b}

Postos				Rz	
Material	N	Posto médio		H de Kruskal-Wallis	
Rz				df	
PMMA	3	2,00		Significância Sig.	,066
Poliiolefina	3	6,67			
Polipropileno	3	6,33			
Total	9				

a. Teste Kruskal-Wallis

b. Variável de Agrupamento:

Material

Teste de Mann-Whitney comparando PMMA com a Poliolefina.

Postos			
Material	N	Posto médio	Soma de Classificações
Rz PMMA	3	2,00	6,00
Poliolefina	3	5,00	15,00
Total	6		

Estatísticas de teste ^a	
	Rz
U de Mann-Whitney	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Significância Sig. (2 extremidades)	,050
Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,100 ^b

a. Variável de Agrupamento: Material

b. Não corrigido para vínculos.

Teste de t-Student comparando a Poliolefina e o Polipropileno.

Teste de amostras independentes										
		Teste de Levene para igualdade de variâncias		teste-t para Igualdade de Médias						
		Z	Sig.	t	df	Significância		Diferença média	Erro de diferença padrão	95% Intervalo de Confiança da Diferença
						Unilateral p	Bilateral p			Inferior Superior
Rz	Variâncias iguais assumidas	,824	,415	-,152	4	,443	,886	-,070042000	,459584810	-1,346053996 1,205969996
	Variâncias iguais não assumidas			-,152	3,023	,444	,888	-,070042000	,459584810	-1,526437842 1,386353842

Anexo 2 – Resultados Ângulo de contacto

PMMA 1 e 2		Ensaíos: Drop - Water		
Run-No	CA(M)	CM	Err	T
1	23,89	L	1,71	22
2	24,29	L	0,23	22,1
3	18,49	L	0,45	22,1
4	28,61	L	0,3	22,1
5	17,76	L	0,46	22,1
6	43,22	L	2,24	22,1
7	27,09	L	0,4	22,1
8	33,51	L	0,25	22,1
1	22,05	L	2,58	22,3
2	14,99	L	9,33	22,3
3	24,74	L	1,3	22,36
4	29	L	2,55	22,24
5	25,39	L	1,37	22,28
6	25,34	L	2,19	22,28
7	21,76	L	1,15	22,24
8	30,87	L	2,87	22,18
9	26,72	L	2,29	22,18
10	30,32	L	0,52	22,18
11	36,83	L	0,57	22,14
Média	26,57211			
DP	6,719647			
POLIPROPILENO 1 e 2		Ensaíos: Drop - Water		
Run-No	CA(M)	CM	Err	T
1	55,59	T	NA	22,5
2	55,09	L	0,72	22,5
3	53,49	T	NA	22,5
4	59,37	L	0,81	22,5
5	33,53	L	2,27	22,5
6	63,62	L	0,57	22,5
7	64,6	L	0,5	22,4
8	66,19	L	0,37	22,5
1	51,38	L	0,78	22,36
2	62,17	L	0,63	22,32
3	71,38	L	0,83	22,36
4	37,16	L	1,69	22,36
5	43,99	L	3,31	22,36
6	64,47	L	0,23	22,42
7	70,46	L	0,45	22,46
8	73,31	L	0,4	22,5
9	54,24	L	0,41	22,5
10	56,21	L	0,25	22,5
Média	57,56944			
DP	11,09804			

POLIOLEFINA 1 E 2		Ensaio: Drop - Water		
Run-No	CA(M)	CM	Err	T
1	70,09	L	0,44	21,8
2	66,49	L	0,38	21,8
3	70,99	L	0,44	21,8
4	70,67	L	0,4	21,8
5	65,93	L	0,43	21,9
6	67,72	L	0,46	21,8
7	71,78	L	0,38	21,8
8	70,74	L	0,41	21,8
9	63,9	L	0,4	21,8
10	66,63	L	0,25	21,8
11	65,95	L	0,21	21,8
12	64,97	L	0,34	21,8
13	65,89	L	0,64	21,8
14	80,43	L	0,32	21,8
15	73,13	L	0,67	21,9
1	56,75	L	0,34	22,8
2	50,26	L	0,65	22,7
3	84,86	L	0,4	22,7
4	85,74	L	0,37	22,7
5	51,12	L	1,5	22,7
6	60,35	L	0,75	22,7
7	79,17	L	0,41	22,7
8	80,44	L	0,73	22,7
9	72,26	L	0,56	22,6
10	70,29	L	0,33	22,7
Média	69,062			
DP	8,955057			

Testes de Normalidade

	Material	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
CA	PMMA	,103	19	,200*	,968	19	,740
	Polipropileno	,134	18	,200*	,942	18	,310
	Poliolefina	,125	25	,200*	,955	25	,328

*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

ANOVA

CA

	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	20090,353	2	10045,176	122,674	<,001
Nos grupos	4831,230	59	81,885		
Total	24921,583	61			

Comparações múltiplas

Variável dependente: CA

Scheffe

(I) Material	(J) Material	Diferença média	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
		(I-J)			Limite inferior	Limite superior
PMMA	Polipropileno	-30,99734*	2,97640	<,001	-38,4717	-23,5229
	Poliolefina	-42,48989*	2,75412	<,001	-49,4061	-35,5737
Polipropileno	PMMA	30,99734*	2,97640	<,001	23,5229	38,4717
	Poliolefina	-11,49256*	2,79725	<,001	-18,5171	-4,4680
Poliolefina	PMMA	42,48989*	2,75412	<,001	35,5737	49,4061
	Polipropileno	11,49256*	2,79725	<,001	4,4680	18,5171

*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

CA

Scheffe^{a,b}

Material	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
PMMA	19	26,5721		
Polipropileno	18		57,5694	
Poliolefina	25			69,0620
Sig.		1,000	1,000	1,000

São exibidas as médias para os grupos em subconjuntos homogêneos.

a. Usa o Tamanho da Amostra de Média Harmônica = 20,245.

b. Os tamanhos de grupos são desiguais. A média harmônica dos tamanhos de grupos é usada. Os níveis de erro de Tipo I não são garantidos.

ANEXO 4 – Resultados Adesão de *C. albicans*

Espécime	UFC
PMMA	110000
PMMA	80000
PMMA	60000
PMMA	30000
PMMA	50000
PMMA	40000
PMMA	100000
PMMA	40000
PMMA	10000
PP	150000
PP	40000
PP	210000
PP	190000
PP	130000
PP	140000
PP	80000
PP	70000
PP	300000
PL	80000
PL	310000
PL	110000
PL	100000
PL	70000
PL	100000
PL	80000
PL	140000
PL	220000

Testes de Normalidade

	Material	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
UFC/mL	PMMA	,149	9	,200 [*]	,954	9	,734
	PP	,145	9	,200 [*]	,960	9	,796
	PL	,287	9	,032	,777	9	,011

*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

Amostras Independentes de Resumo de Teste Kruskal-Wallis

N total	27
Estatística de teste	9,000 ^a
Grau de Liberdade	2
Sinal assintótico (teste de dois lados)	,011

a. A estatística do teste está ajustada para empates.

Comparações por Método Pairwise de Material

Sample 1-Sample 2	Estatística de teste	Erro Padrão	Estatística de Teste Padrão	Sig.	Adj. Sig. ^a
PMMA-PL	-9,278	3,730	-2,488	,013	,039
PMMA-PP	-10,056	3,730	-2,696	,007	,021
PL-PP	,778	3,730	,209	,835	1,000

Cada linha testa a hipótese nula em que as distribuições Amostra 1 e Amostra 2 são iguais.

As significâncias assintóticas (teste de dois lados) são exibidas. O nível de significância é ,050.

a. Os valores de significância foram ajustados pela correção Bonferroni para vários testes.